

UNIVERSITE DE GENEVE

Département de Pharmacologie
Département de Biochimie

FACULTE DE MEDECINE
Professeur R.W. STRAUB

FACULTE DES SCIENCES
Professeur J. DESHUSSES

**ETUDE SUR
L'ADENOSINE 3',5'- MONOPHOSPHATE
(AMP CYCLIQUE)
DANS LE SYSTEME NERVEUX
PERIPHERIQUE**

THESE

Présentée à la Faculté des sciences
de l'Université de Genève
pour obtenir le grade de docteur ès sciences,
mention biochimique

par

Philippe ROCH
de —
Lancy (Genève)

Thèse No 1840

1977
—

Genève
Service Rapide Offset
1978



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545927_0004

UNIVERSITE DE GENEVE

Département de Pharmacologie
Département de Biochimie

FACULTE DE MEDECINE

Professeur R.W. STRAUB

FACULTE DES SCIENCES

Professeur J. DESHUSSES

**ETUDE SUR
L'ADENOSINE 3',5'-MONOPHOSPHATE
(AMP CYCLIQUE)
DANS LE SYSTEME NERVEUX
PERIPHERIQUE**

THESE

Présentée à la Faculté des sciences
de l'Université de Genève
pour obtenir le grade de docteur ès sciences,
mention biochimique

par

Philippe ROCH
de
Lancy (Genève)

Thèse No 1840

Genève
Service Rapide Offset
1978

La faculté des sciences, sur le préavis de
Messieurs J. DESHUSSES, professeur ordinaire, R.W. STRAUB,
professeur ordinaire (Fac. de Médecine), codirecteurs de
thèse et W. HAEFELY, docteur ès sciences (Université de
Bâle) autorise l'impression de la présente thèse, sans
exprimer d'opinion sur les propositions qui y sont
énoncées.

Genève, le 18 octobre 1977

Le Doyen

Thèse 1840

Bernard Levrat



R E M E R C I E M E N T S

J'adresse mes sincères remerciements

- au Professeur R.W. Straub qui a dirigé ce travail
- au Professeur J. Deshusses, co-directeur, qui a présenté ce travail à la Faculté des Sciences
- au Docteur P. Kalix qui a très étroitement collaboré à l'ensemble de ce travail
- au Docteur W. Haefely pour sa lecture critique du texte et sa participation au jury
- à Monsieur A. Salamin pour sa collaboration aux expériences sur le nerf vague
- à Mesdames D. Gasser, K. Helfer, M. Moosmayer et Monsieur P. Jirounek pour leur collaboration
- à Messieurs S. Ferrara et A. Masiero pour leur aide technique
- à Mesdames S. Anken, N. Collet et Monsieur P. Willy pour la frappe du texte et la réalisation des figures
- à tous les collaborateurs du Département de Pharmacologie pour leur appui et leur amitié
- à la direction et au personnel des abattoirs de la ville de Genève qui m'ont fourni les ganglions de veau.

S O M M A I R E

PAGES

RESUME	5
I. INTRODUCTION	9
II. METHODES	12
II.a. Tissus	12
II.a.1. Ganglion cervical supérieur	12
II.a.2. Nerf vague	15
II.b. Incubation	15
II.c. Dosage de l'AMP cyclique	17
II.c.1. Préparation des échantillons pour le dosage	18
II.c.2. Préparation de la protéines de liaison	18
II.c.3. Mesure de la teneur en AMP cyclique	19
II.d. Dosage des protéines	22
II.e. Dosage de l'ATP	23
II.e.1. Principe	23
II.e.2. Réactifs	23
II.e.3. Procédure expérimentale	24
II.f. Mesure de l'activité de l'ATPase	25
II.f.1. Principe	25
II.f.2. Réactifs	25
II.f.3. Procédure expérimentale	26
II.g. Mesure des potentiels	27
III. RESULTATS ET DISCUSSION	28
III.a. Electrophysiologie et cholinomimétiques	28
III.b. Dopamine et agents α -adrénergiques	29
III.b.1. Introduction	29
III.b.2. Ganglion cervical supérieur	31
III.b.3. Nerf vague	40
III.c. Agents β -adrénergiques	44
III.c.1. Introduction	44

III.c.2. Ganglion cervical supérieur	44
III.c.3. Nerf vague	46
III.d.Effet de l'adénosine	51
III.d.1. Introduction	51
III.d.2. Ganglion cervical supérieur	51
III.d.3. Nerf vague	53
III.e.Agents dépolarisants	58
III.e.1. Introduction	58
III.e.2. Ganglion cervical supérieur	59
III.e.3. Nerf vague	80
III.f.Fluorure	83
III.f.1. Introduction	83
III.f.2. Ganglion cervical supérieur	84
III.f.3. Nerf vague	85
CONCLUSIONS	94
IV.a. Synthèse des résultats	94
IV.b. Fonctions de l'AMP cyclique dans le système nerveux	96
IV.b.1. Introduction	96
IV.b.2. Electrophysiologie	96
IV.b.3. Métabolisme des neurotransmetteurs	98
IV.b.4. Régulation de la croissance des nerfs	99
IV.b.5. Métabolisme des sucres et des lipides	99
IV.c. Schéma hypothétique	100
REFERENCES	104
BIBLIOGRAPHIE DE L'AUTEUR	122

R E S U M E

La concentration d'AMP cyclique peut être augmentée dans le système nerveux périphérique par l'action de plusieurs groupes d'agonistes. Deux types de tissus nerveux ont été étudiés, soit un tissu riche en synapses, le ganglion cervical supérieur de veau, et un tissu constitué d'axones non myélinisés, le nerf vague de lapin.

En présence de théophylline la dopamine est capable de tripler le taux d'AMP cyclique dans le ganglion cervical supérieur. Son effet est antagonisé, dans l'ordre d'efficacité décroissante, par la phénylbenzamine, l'halopéridol et la phentolamine, mais pas par le 1-propranolol. La noradrénaline a des propriétés semblables, à une concentration deux fois supérieure à la dopamine. Dans le nerf vague la dopamine et la phényléphrine n'ont pas d'effet sur le taux d'AMP cyclique.

Les agonistes β -adrénergiques augmentent le taux d'AMP cyclique tant dans le ganglion cervical supérieur que dans le nerf vague. Dans le premier, l'isoprénaline provoque un doublement du taux d'AMP cyclique, alors que dans le nerf vague, ce taux est triplé par une concentration d'isoprénaline 2 à 3 fois inférieure. L'adrénaline a essentiellement une activité β -adrénergique dans les deux tissus; elle a toutefois aussi un effet α -adrénergique partiel dans le ganglion cervical supérieur.

L'adénosine et l'ATP sont capables d'élever le taux d'AMP cyclique dans le nerf vague, mais ils sont sans effet dans le ganglion

cervical supérieur. Leur effet est inhibé par la théophylline, un inhibiteur spécifique du récepteur à adénosine. Aucun des autres agonistes étudiés n'inhibe l'accumulation d'AMP cyclique par adénosine.

Les agents dépolarisants provoquent une synthèse accrue d'AMP cyclique dans le ganglion cervical supérieur, mais pas dans le nerf vague. Cet effet peut être bloqué par les anesthésiques locaux, mais les agents anti-adrénergiques, anticholinergiques, ou anti-adénosinergiques sont sans effet. L'absence de calcium extracellulaire empêche l'action des dépolarisants qui semblent agir soit directement sur la membrane et les récepteurs qu'elle recèle, soit par libération de neurotransmetteurs.

Le fluorure qui est un activateur non spécifique de l'adénylate cyclase dans les homogénats de nombreux tissus, provoque une accumulation d'AMP cyclique dans des morceaux de ganglion cervical supérieur et de nerf vague pour autant que l'on utilise des concentrations suffisantes.

L'inhibition de la phosphodiesterase est indispensable à la mise en évidence d'une accumulation d'AMP cyclique dans le ganglion cervical supérieur. Elle n'est pas nécessaire dans le nerf vague où elle permet toutefois de doubler l'effet de la stimulation par le fluorure.

L'ensemble de ces observations montre que les possibilités de provoquer une accumulation d'AMP cyclique dans le système nerveux

périphérique sont presque aussi nombreuses que dans le système nerveux central. Par contre, le fait que le système nerveux périphérique soit morphologiquement moins complexe devrait permettre de dissocier les différentes fonctions de l'AMP cyclique et rendre ainsi leur étude plus aisée. Un schéma hypothétique du rôle de l'AMP cyclique dans les différents compartiments des structures nerveuses périphériques est proposé.

I. INTRODUCTION

L'adénosine 3',5'-monophosphate (AMP cyclique) est le médiateur de l'action de nombreuses hormones et de certains neurotransmetteurs. Le modèle actuellement accepté est le suivant (figure 1) : en se liant à un récepteur membranaire les substances agonistes stimulent l'adénylate cyclase qui forme de l'AMP cyclique à partir d'ATP. A son tour, l'AMP cyclique active des protéine-kinases, responsables de la phosphorylation d'enzymes ou de protéines membranaires. Ces phosphorylations conduisent finalement aux effets des agonistes sur le tissu considéré (ROBISON G.A. et al., 1971; GREENGARD P. et ROBISON G.A., 1973).

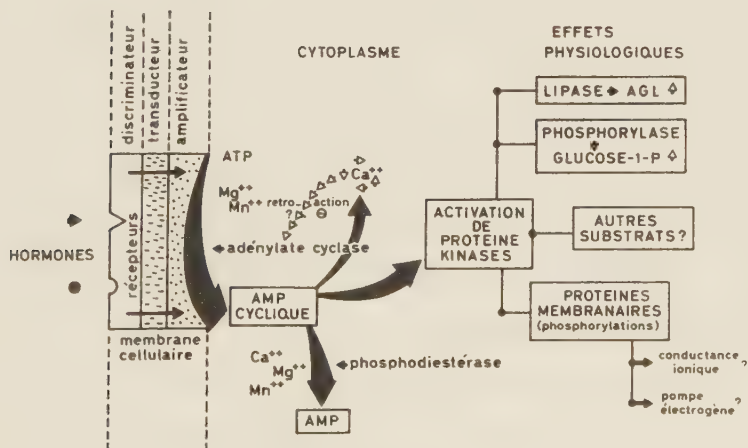


FIGURE 1 : MECANISME D'ACTION DE L'AMP CYCLIQUE

Tiré de (SCHORDERET M., 1974a).

Le rôle de l'AMP cyclique dans le système nerveux a fait l'objet de nombreuses études pharmacologiques, biochimiques et électrophysiologiques résumées dans des revues récentes (DRUMMOND G.I., 1973; RUDERET M., 1974b; BLOOM F.E., 1975; NATHANSON J.A., 1977). Au delà de ces études expérimentales, des observations cliniques parlent en faveur d'un rôle de l'AMP cyclique dans un certain nombre d'affections nerveuses. Par exemple des études de comportement faites sur des lignées parallèles de souris ont montré que l'agressivité est liée à un taux élevé d'AMP cyclique dans le cerveau (ORENBERG E.K. et al., 1974). La papavérine, en inhibitant la dégradation de l'AMP cyclique, bloque la différenciation ou la destruction de cellules neuronales préneuroennes (PRASAD K.N., 1974) et de cellules gliales cancéreuses (LEGEL B. et OEY J., 1975). La schizophrénie semble être en relation avec l'hypersensibilité d'une adénylate cyclase liée à un récepteur dopaminergique (IVERSEN L.L., 1976). La maladie de Parkinson est due à une déficience de dopamine dans le nucleus caudé et le transmetteur a pour fonction d'activer une adénylate cyclase (NATHANSON J.A., 1977). L'AMP cyclique est probablement encore impliqué dans d'autres phénomènes centraux, en particulier dans les mécanismes de la mémoire (NATHANSON J.A., 1977).

Le rôle précis et le mécanisme d'action de l'AMP cyclique dans le système nerveux central sont très complexes et pour le moment, l'utilisation thérapeutique de ce nucléotide est difficile à envisager. Il est dès lors étonnant que l'on ait peu étudié le rôle de

1'AMP cyclique dans le système nerveux périphérique où la discrimination entre les différents compartiments morphologiques et unités fonctionnelles est beaucoup plus aisée que dans le système nerveux central. Les seules études faites au niveau périphérique ont eu pour objet l'implication éventuelle de l'AMP cyclique dans la transmission ganglionnaire. Il est vrai que les observations faites dans le système nerveux périphérique ne sont pas immédiatement transposables dans le système nerveux central mais une bonne compréhension de la situation dans l'un devrait faciliter les investigations dans l'autre.

C'est dans cette optique que le présent travail a été effectué pour établir les bases pharmacologiques de l'accumulation d'AMP cyclique dans le système nerveux périphérique.

II. M E T H O D E S

1. Tissus

Cette étude porte sur deux types de tissus du système nerveux périphérique: le ganglion cervical supérieur du veau, une structure riche en synapses (figure 2) et la section cervicale du nerf vague du rat, un tissu composé surtout d'axones non myélinisés (figure 3).

1.1. Ganglion cervical supérieur

Les voies sympathiques qui innervent le coeur, les poumons, les reins ainsi que la peau et les glandes de la tête et du cou passent par les ganglions sympathiques cervicaux. Les corps cellulaires des neurones préganglionnaires sont situés dans la moelle épinière. Les fibres postganglionnaires du ganglion cervical supérieur atteignent le nerf carotidien interne, le nerf jugulaire, le nerf cardiaque supérieur et le nerf carotidien externe. Le rapport numérique entre fibres préganglionnaires et fibres postganglionnaires peut atteindre 1: 20, ce qui donne au ganglion le pouvoir d'amplifier l'influx. Une cellule postganglionnaire peut être innervée par plusieurs fibres préganglionnaires (CARRIER O., 1972).

Le ganglion est composé de plusieurs types de cellules (DOLIVO M., 1972):

1. Les cellules du tissu conjonctif qui entoure le ganglion et qui représente environ 30 % du poids sec mais est métaboliquement peu actif.
2. Les neurones, dont le diamètre est variable.



FIGURE 2 : BASE DU CRANE DE LA VACHE

Dissection du côté droit de la région gutturale d'une vache adulte. Le stylo-hyal (soudé chez l'Homme au temporal pour former l'apophyse styloïde, mais large et indépendant du crâne chez les Ongulés) a été désarticulé du temporal et récliné vers l'avant avec ses muscles satellites. Il est indiqué par la lettre "H" sur la photographie. La carotide externe (marquée "E" sur la photographie) prolonge la carotide primitive (P). La photographie indique également l'artère occipitale (O), l'aile de l'atlas (A) ainsi que les nerfs vague (X) et accessoire (XI) et enfin le ganglion cervical supérieur (G). (D'après une communication personnelle de Mr. le Professeur BARONE, du Laboratoire d'anatomie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon).

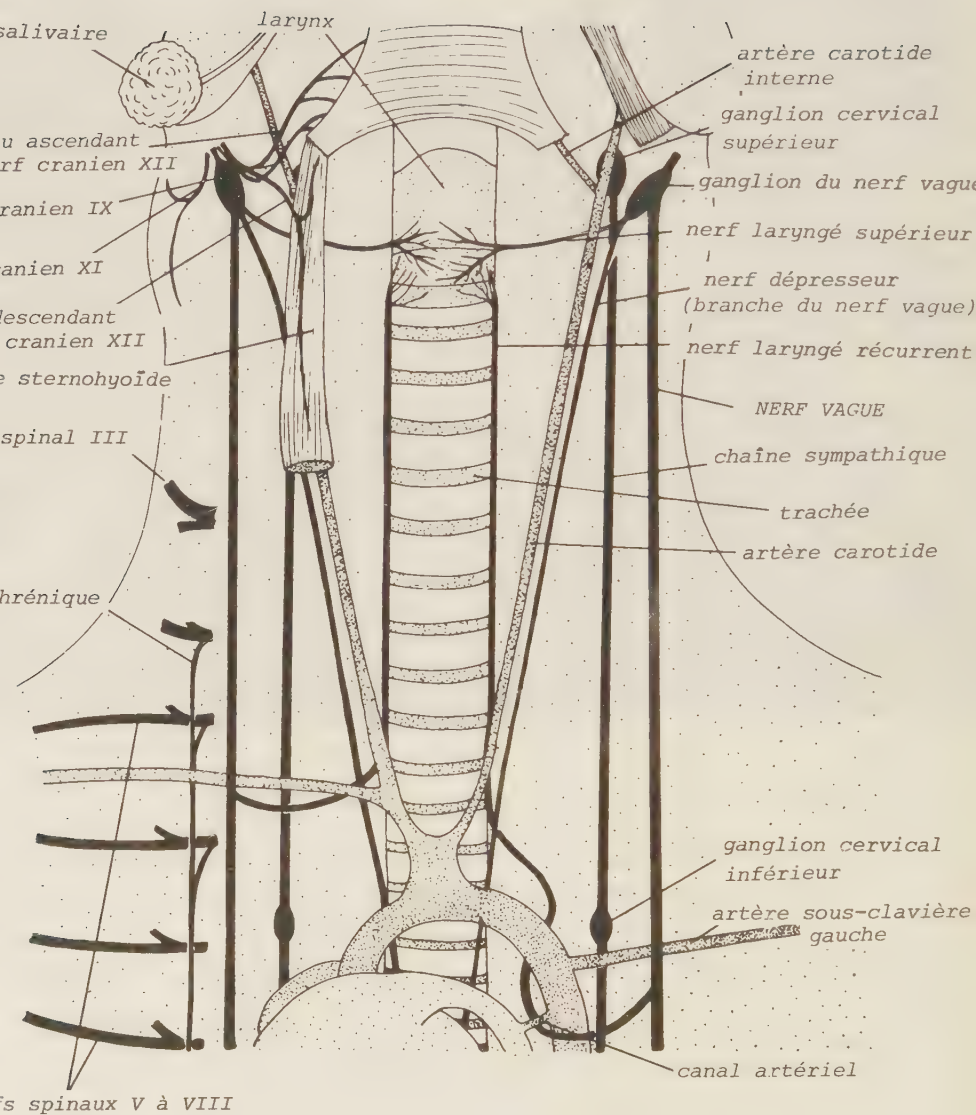


FIGURE 3 : DISSECTION DU COU DU LAPIN

Tiré de (WELLS T.A.G., 1969).

- les cellules gliales réparties en cellules de Schwann et cellules satellites.
- les cellules chromaffines qui contiennent des catécholamines mises en évidence par des réactions qui conduisent à une coloration ou à une fluorescence. On distingue les corps cellulaires des nerfs postganglionnaires et les petites cellules intensément fluorescentes (SIF-cells) (SANTER R.M. et al., 1975). Une partie de ces dernières fonctionnent comme interneurones (GREENGARD P. et KEBABIAN J.W., 1974). Elles ont été récemment mises en évidence chez le boeuf (KEBABIAN J.W. et al., 1975), où il est possible de distinguer deux types de cellules intensément fluorescentes, celles qui jouent probablement le rôle d'interneurones, et les autres qui sont regroupées autour des capillaires (WILLIAMS T.H., 1975).

II.a.2. Nerf vague

La section cervicale du nerf vague de lapin est composée d'environ 25.000 axones dont 13 % seulement sont myélinisés (EVANS D.H.L. et MURRAY J.G., 1954). La topographie du cou de lapin est représentée à la figure 3.

II.b. Incubations

Les tissus sont prélevés immédiatement après l'abattage sur des animaux tués par balles. Les tissus de veau sont obtenus à partir d'animaux âgés d'environ 3 mois, provenant de l'abattoir municipal de la ville de Genève. Les tissus de lapin sont obtenus à partir d'animaux

tes, pensionnés et abattus à l'animalerie du Département de Pharmacie. Les tissus prélevés sont transportés dans une solution glacée de Locke. Après dégainage les nerfs sont coupés en sections de 1 à 4 cm de longueur et les ganglions sont divisés en morceaux de 0,5 à 3 mm de longueur.

Ces échantillons sont ensuite équilibrés pendant au moins 30 min. dans la solution de Locke contenant l'inhibiteur. Ils sont ensuite transférés dans une solution de Locke contenant les agents pharmacologiques étudiés.

Toutes les incubations sont faites à 37°C et pH 7,4. La solution de Locke utilisée pour les ganglions de veau, se compose comme suit:

NaCl 136 mM, KCl 5,6 mM, NaHCO_3 20 mM, NaH_2PO_4 1,2 mM, CaCl_2 2,2 mM, MgCl_2 1,2 mM et glucose 5,5 mM. La solution utilisée pour l'incubation des nerfs de lapin a été légèrement modifiée en vue d'expériences à faire pour étudier l'influence de l'AMP cyclique sur le transport de phosphate. Elle se compose de: NaCl 154 mM, KCl 5,6 mM, CaCl_2 0,9 mM, MgCl_2 0,5 mM, acide morpholinopropane sulfonique (MOPS) 10 mM, glucose 5 mM, NaH_2PO_4 et Na_2HPO_4 1 mM.

Dans certaines solutions de Locke le contenu en potassium a été augmenté, ceci aux dépens du contenu en sodium. Par contre, dans les expériences utilisant le fluorure comme stimulateur ce dernier est simplement ajouté sous forme de NaF sans réduire les autres composants de la solution.

Les solutions sont saturées, avec un mélange d' O_2 95 %, CO_2 5 %, avant l'expérience, soit de façon continue. Au cours de cette étude,

il n'a pas été constaté de différences entre les résultats obtenus avec l'une ou l'autre méthode.

II.c. Dosage de l'AMP cyclique

L'AMP cyclique est capable d'activer la phosphorylase kinase du foie, elle-même activatrice de la phosphorylase responsable de la dégradation du glycogène en glucose-1-phosphate. Cette propriété est à la base des premiers dosages d'AMP cyclique (RALL T.W. et SUTHERLAND E.W., 1958).

D'autres méthodes se basent sur le fait qu'un mélange de ZnSO_4 et Ba(OH)_2 précipite les nucléosides et nucléotides, à l'exception de l'AMP cyclique, de l'adénosine et de la cytidine. Cette réaction a été utilisée en combinaison avec la chromatographie sur colonne pour isoler l'AMP cyclique (KRISHNA G. et al., 1968).

L'AMP cyclique et d'autres nucléotides peuvent également être mesurés par dosage radio-immunologique (STEINER A.L., 1973). Le rôle de ligand spécifique pour l'AMP cyclique peut non seulement être joué par des anticorps, mais aussi par une protéine découverte dans les surrénales et capable de lier très spécifiquement l'AMP cyclique (GILL G.N. et GARREN L.D., 1969). Cette protéine dont les propriétés ont été bien étudiées chez le boeuf (CHEUNG W.Y. et PATRICK S.M., 1974), a permis de mettre au point une méthode de compétition isotopique pour le dosage de l'AMP cyclique (GILMAN A.G., 1970; BROWN B.L. et al., 1971). C'est cette dernière méthode de dosage, simple et très spécifique, qui a été utilisée dans ce travail.

1. Préparation des échantillons pour le dosage

Après incubation, les morceaux de tissu nerveux sont homogénéisés dans les homogénéisateurs de verre qui contiennent 1 ml d'acide hydrique 0,2 N en solution éthanolique. Afin de séparer les protéines, l'homogénat est centrifugé à basse vitesse. Le surnageant est décanté et porté à 60°C sous courant d'azote, puis repris dans 1 ml de tampon de Brown, et constitue l'échantillon dans lequel l'AMP cyclique est dosé. Le résidu est repris dans 5 ml de NaOH 1 N et est utilisé pour le dosage des protéines.

Le tampon de Brown est composé de 0.72 g de théophylline, 6.0 g de HCl, 0.2 ml de mercaptoéthanol dans 500 ml d'eau. Le pH est ajusté à 7.4 par du NaOH.

2. Préparation de la protéine de liaison

Des surrénales de veau sont prélevées rapidement après l'abattage et transportées au laboratoire dans du Locke glacé. La suite des opérations se fait en chambre froide (4°C).

Le cortex surrénal est séparé de la médulla au moyen d'une lame fine. Il est ensuite homogénéisé dans un mixer de cuisine avec 1,5 ml d'une solution contenant du sucrose 250 mM, du tris-HCl 50 mM ajusté à pH 7,4 avec KOH, du KCl 25 mM et du $MgCl_2$ 5 mM.

L'homogénat est centrifugé 5 minutes à 2.000 g et le surnageant est de nouveau centrifugé à 5.000 g. Le surnageant résultant de la deuxième centrifugation contient la protéine de liaison. Elle est stockée en aliquots de 0,5 ml à - 20°C, conditions dans lesquelles elle se conserve sans altération pendant au moins une année. Pour les dosages, cet-

te solution est diluée avec 25-35 volumes de tampon de Brown de telle façon que dans le milieu de réaction 10 à 30 % de l'AMP cyclique présente suffisent à saturer la protéine de liaison.

II.c.3. Mesure de la teneur en AMP cyclique

Le principe du dosage de l'AMP cyclique avec la protéine de liaison est explicité dans la figure 4. L'échantillon ou une quantité connue

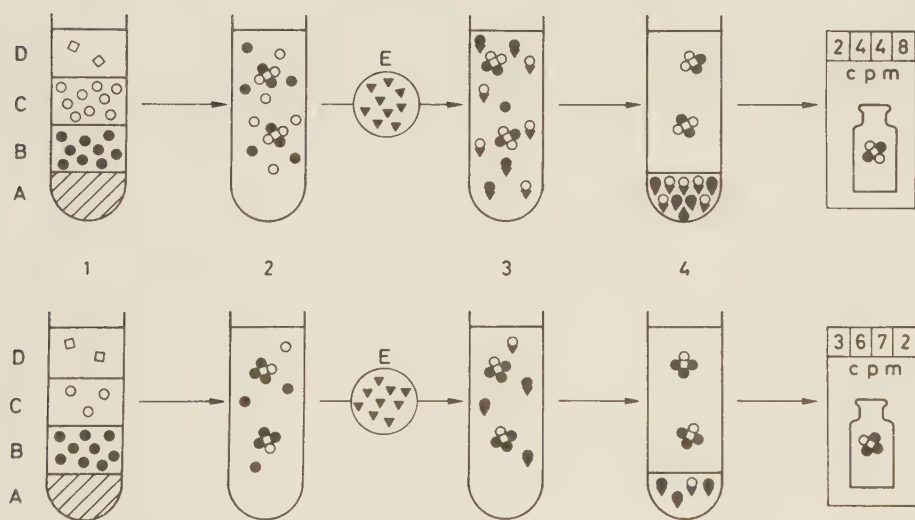


FIGURE 4 : PRINCIPE DU DOSAGE DE L'AMP CYCLIQUE

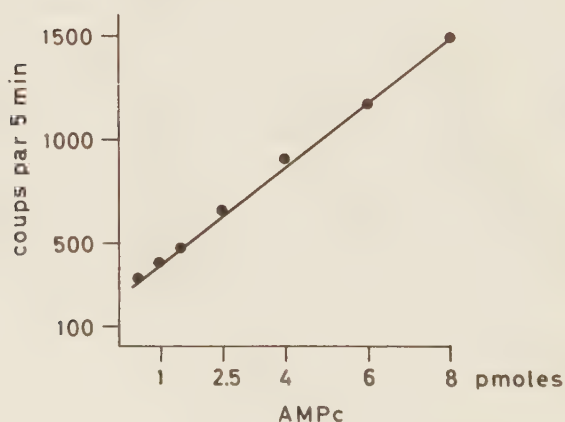
(A) : solution de Brown. (B) : ^3H -AMP cyclique.

(C) : AMP cyclique à doser. (D) : protéine de liaison.

(E) : charbon actif.

La ligne supérieure représente le dosage d'un échantillon contenant trois fois plus d'AMP cyclique que celui de la ligne inférieure.

P cyclique (B) est mélangé à une quantité fixe d'AMP cyclique
oactif (C). La protéine de liaison (D) complexe une quantité fixe
P cyclique. Les proportions entre AMP cyclique froid et AMP cyclique
ué sont les mêmes sur la protéine et dans la solution. Ainsi, moins
é mélange contient d'AMP cyclique à doser, plus la fraction d'AMP cy-
ue radioactif est grande et plus le complexe protéine - AMP cyclique
radioactif. Après incubation du mélange d'AMP cyclique, ^3H -AMP
ique et protéine de liaison pendant au moins 90 min, du charbon
f saturé d'albumine est ajouté (5 g de charbon Norit GSX, Hopkins et
iams (Angl.), 1 g de séralbumine bovine dans 50 ml de tampon de
n) (E). Ce charbon absorbe l'AMP cyclique resté libre et l'entraîne
ours d'une centrifugation. La radio-activité que contient la
éine de liaison saturée d'AMP cyclique est ensuite déterminée dans un



RE 5 : COURBE STANDARD DU DOSAGE DE L'AMP CYCLIQUE

En abscisse figure la concentration des standards d'AMP cyclique
et en ordonnée l'inverse des coups accumulés en 5 min de
comptage de la radioactivité.

compteur à scintillation (scintillateur : 10 g d'un mélange de 98 % de 2,5-diphenyloxazole et de 2 % de p-bis (o-méthylstyryl), benzène, 800 ml de éthylèneglycolmonoethylether et 1.600 ml de toluène).

TUBES	1 - 2	3 - 4	5 - 6	7 - 8	9 - 10	11 - 12	13 - 14	15 - 16	17 - 18	ECHANTILLON $X_1 - X_2$
TAMPON	300	200	150	—————						100
AMP _c (nM)										
0										
0,25			50							
0,5				50						
1					50					
1,5						50				
2,5							50			
4								50		
8									50	
ECHANT.										100
³ H-AMP _c	200	—————								
PROTEINE	0	100	—————							
INCUBATION	90 MIN.	—————								
CHARBON	200	—————								

TABLEAU I : DOSAGE DE L'AMP CYCLIQUE

Carte d'expérience. Première ligne : numérotation des tubes, Deuxième ligne : quantités de tampon de Brown en μl . Lignes suivantes : 50 μl de standards d'AMP cyclique ou 100 μl d'échantillon. Ensuite : 200 μl d'AMP cyclique radioactif et 0 ou 100 μl de protéine de liaison. Attendre 90 min à 4°C puis ajouter 200 μl de charbon actif. Mélanger et centrifuger.

iste une relation linéaire entre la quantité d'AMP cyclique dans l'échantillon et l'inverse de la radioactivité mesurée (figure 5). L'ensemble de la technique est présentée sous forme condensée au tableau I.

Dosage des protéines

Le dosage des protéines a été effectué par la méthode spectrophotométrique de LOWRY et al., (1951).

Les solutions utilisées sont les suivantes :

Standard : 20 mg de sérumalbumine dans 100 ml de NaOH 1N.

Réactif 1 : Sulfate de cuivre 5 % : 0,1 ml.

Tartrate de sodium 1 % : 1,0 ml.

Carbonate de sodium 2 % : 50,0 ml.

Réactif 2 : Solution de Folin - Ciocalteu.

La courbe standard est établie en mesurant l'absorption de 20, 40 et 60 µg d'albumine par rapport à un blanc. Les échantillons sont préparés en double, à raison de 0,3 ml par tube. Après avoir ajouté 3 ml de réactif 1, on laisse réagir 10 min, et l'on ajoute 3 ml du réactif 2 en agitant. La densité optique est déterminée 30 min plus tard à 600 nm.

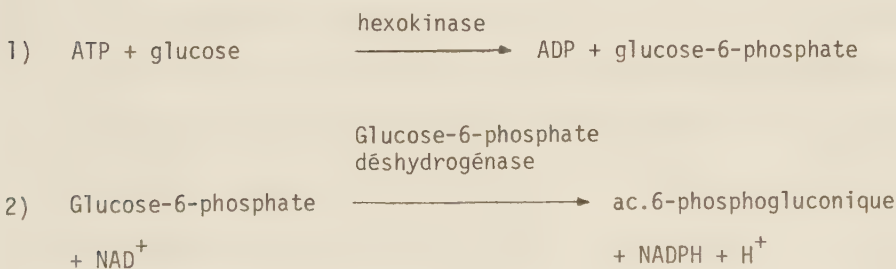
Calcul des résultats:

$$\text{échantillon (mg.)} = \text{DO}_{\text{éch.}} \cdot \frac{\text{standard (mg.)} \cdot 5 \text{ (ml.)}}{\text{DO}_{\text{stand}} \cdot 0,3 \text{ (ml.)}}$$

II.e. Dosage de l'ATP

II.e.1. Principe

Le dosage de l'ATP est effectué par fluorimétrie (GREENGARD P., 1968). La méthode est basée sur le fait que le nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit (NADPH) fluoresce, alors que le NADP^+ ne fluoresce pas. La longueur d'onde d'excitation est de 365 nm. et celle d'émission de 460 nm. Les réactions chimiques qui entrent en jeu dans cette méthode sont les suivantes:



II.e.2. Réactifs

- Glucose 1,0 M
- Chlorure de magnésium 0,15 M

éthylène diamine tétra acétate de sodium ($\text{EDTA-Na}_2\text{H}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 0,02 N,
4. Dissoudre 774 mg. d'EDTA dans 75 ml. d' H_2O . Ajuster le pH avec
0, 1N et compléter à 100 ml. avec H_2O .

tampon triéthanolamine 0,1M, pH 8,0. Dissoudre 1,857 g. de triéthanolamine-HCl dans un peu d'eau. Ajuster le pH avec NaOH 0,1N (environ 1.) et compléter à 100 ml. avec H_2O .

nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADP^+) $5 \cdot 10^{-5}\text{M}$. Solution stock ($2,5 \cdot 10^{-3}\text{M}$): dissoudre 20 mg. de $\text{NADP}^+ \text{NaH}_2$ dans H_2O et ajuster à 10 ml. Avant l'emploi: diluer 1: 50.

Adénosine triphosphate (ATP) 10^{-5}M . Solution stock: dissoudre 12 mg. de $\text{P Na}_2\text{H}_2\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ dans 2 ml. d' H_2O . Avant l'emploi: diluer 1: 1000.

Glucose-6-phosphate déhydrogénase/hexokinase (0,7 mg. protéines/ml.).

Prelever le contenu d'une ampoule d'enzymes lyophilisées dans 1 ml.

mettre au glacé.

3. Procédure expérimentale

Plonger le nerf dans un tube contenant 3 ml. de tampon triéthanolamine dans un bain-marie à ébullition. Après 40 secondes, refroidir le nerf sur glace et homogénéiser. Ajouter 2 ml. de chloroforme exempt d'alcool. Mélanger vigoureusement et centrifuger 10 min. à 3.000 g. L'analyse est effectuée sur le surnageant.

Introduire successivement dans les éprouvettes:

1,5 ml. d'un mélange composé de 0,2 ml. de solution de glucose, 2,0 ml.

solution de NADP^+ , 0,2 ml. de MgCl_2 , 0,6 ml. d'EDTA.

- 0,2 ml d'échantillon, standard ou blanc
- 0,12 ml de tampon triéthanolamine
- 0,58 ml d'H₂O
- 0,05 ml de solution d'enzymes.

Suivre la courbe de fluorescence et lire lorsqu'elle atteint son maximum (Excitation à 365 nm, émission à 460 nm). Les calculs se font par rapport à une courbe standard.

II.f. Mesure de l'activité de l'ATPase

II.f.1. Principe

L'ATPase (E.C. 3.6.1.3) hydrolyse l'ATP. Son activité est déterminée par la mesure de la quantité de phosphate inorganique qu'elle libère (MODOLELL J.B. et MOORE R.O., 1967 ; FISKE C.H. et SUBRAROW Y., 1925).

Les nerfs sont dégainés et préincubés pendant une heure à température ambiante dans une solution à pH 7,5 contenant : isethionate de sodium (2-hydroxyethanesulfonate de sodium) 160 mM, sulfate de calcium 5 mM, Tris (hydroxyméthyl) aminométhane HCl 2,5 mM, glucose 5 mM et le cas échéant ouabaïne. Les nerfs sont ensuite homogénéisés.

II.f.2. Réactifs

- Solution d'incubation : 1.620 ml de MgCl₂ 0,1 M ; 1.050 ml de Tris HCl 1M, pH 7,5 ; 1.350 ml de EDTA-Tris 0,01M, pH 7,5 ; 4.800 ml de saccharose 1 M pH 7,5 ; 4.800 ml de NaCl 1 M, 0.960 ml de KCl 1 M.

ampon Tris : 0,3 mM pH 7,5

CA 40 %

lybdate : 3 ml de $(\text{NH}_4)_6 \text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 10 % dans H_2SO_4 10 M ; 1,5 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$; 30 ml de H_2O .

P - Tris : 32 mg d'ATP ; 0,1 ml de Tris ; 0,9 ml H_2O .

saccharose 1 M : 34,2 mg de saccharose dans H_2O , ajuster le pH à 7,5

Tris et compléter à 100 ml. Avant l'emploi : diluer 4 x H_2O .

standard phosphate : 219,3 mg de KH_2PO_4 dans 50 ml H_2O . Diluer 20 x

obtenir 0,05 mg P_i /ml. Dans chaque tube : 0,1 ml + 0,9 ml H_2O :

tube.

3. Procédure expérimentale

Pour un échantillon d'environ 100 mg :

homogénéiser le nerf, le cas échéant le couper en petits morceaux,

2 ml de saccharose - Tris 0,25 M.

mettre 1 ml d'eau dans des tubes à centrifuger.

ajouter 0,29 ml de la solution d'incubation dans chaque tube.

ajouter 0,05 ml d'homogénat.

ajouter 0,05 ml d'ATP.

ajouter.

incuber 60 min à 37°C.

arrêter la réaction en ajoutant 0,4 ml de TCA à 4°C.

ajouter 1,5 ml d'eau à 4°C.

ajouter 0,05 ml d'homogénat dans les blancs.

- Agiter.
- Centrifuger 15 min. à 2.000 g., 4°C.
- Prélever 1 ml. de surnageant prélevé 1,2 ml. de réactif molybdate.
- Lire après 5 min. à 720 nm.

Pour chaque mesure, préparer un blanc et 3 échantillons.

Calcul des résultats:

$$\text{activité en } \frac{\text{nmoles}}{\text{g.} \times \text{heures}} = \frac{DO_{\text{éch.}} \times 5 \times 3,4 \times 2}{DO_{\text{stand.}} \times 31 \times 0,05 \times \text{échant. (mg.)}}$$

II.g. Mesure des potentiels

La mesure des potentiels dans le nerf vague a été effectuée par la méthode du sucrose gap dans un milieu où les ions chlorures sont remplacés par de l'isethionate (STAMPFLI R., 1954; STRAUB R.W., 1956; RANG H.R. et RITCHIE J.M., 1968; INGIGNOLI J.P., 1972).

III. RESULTATS ET DISCUSSION

Le taux d'AMP cyclique a été mesuré dans le ganglion cervical supérieur de veau et la section cervicale du nerf vague de lapin au repos après traitement avec plusieurs groupes de substances tels que cholinomimétiques, sympathomimétiques, adénosine, dépolarisants, fluorure, inhibiteurs de phosphodiesterase et inhibiteurs divers.

a. Electrophysiologie et cholinomimétiques

La stimulation électrique d'un nerf préganglionnaire provoque une augmentation d'AMP cyclique dans le ganglion cervical supérieur de lapin (McAFEE D.A. et al., 1971) et de chat (CHATZKEL S. et al., 1974). Cet effet peut être imité par des agents cholinomimétiques, tel le carbachol, chez le lapin (KALIX P. et al., 1974) et chez le veau (tableau II, figure 6). Chez le lapin, l'augmentation du taux d'AMP cyclique

TABLEAU II : EFFET DU CARBACHOL SUR LE CONTENU EN AMP CYCLIQUE DU GANGLION CERVICAL SUPERIEUR DE VEAU EN FONCTION DU TEMPS

Les morceaux de tissu sont préincubés 30 min. dans du Locke puis ils sont transférés dans du Locke contenant du carbachol 3 mM et de la théophylline 10 mM pour les durées indiquées. Les résultats sont exprimés en pmol d'AMP cyclique / mg. de protéines. Chaque valeur représente la moyenne d'au moins deux expériences indépendantes.

	0	1	2	3	9	15
AMP cyclique (pmol/mg. prot.)	20,2	26,9	46,0	68,0	76,0	50,8

que due à la stimulation électrique ou aux cholinomimétiques a pu être inhibée par des inhibiteurs muscariniques (atropine) et par des inhibiteurs α -adrénergiques (phénoxybenzamine), mais pas par des inhibiteurs nicotiques (hexaméthonium) ni par des antagonistes β -adrénergiques (sotalol) (KALIX P. et al., 1974).

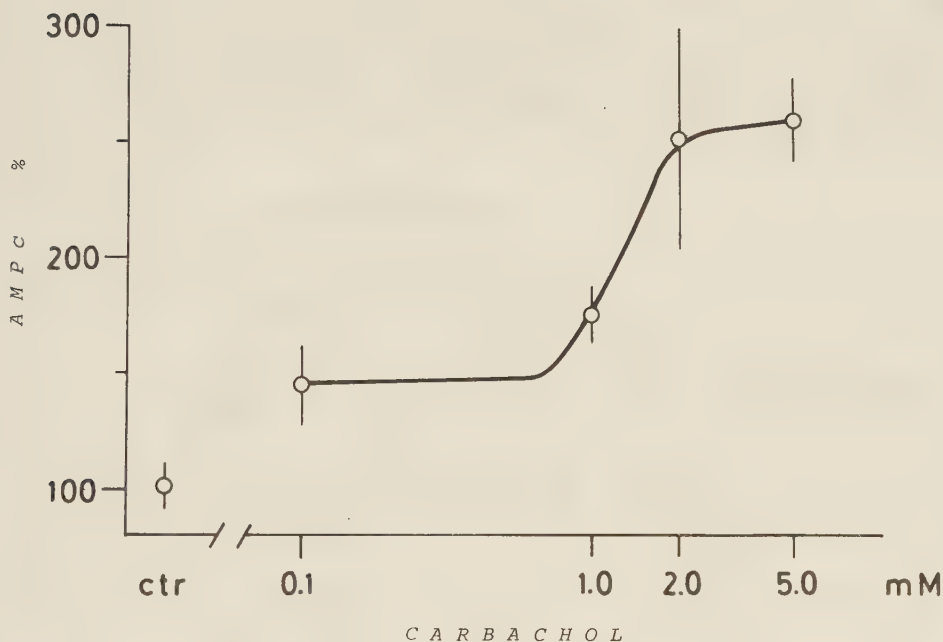


FIGURE 6 : EFFET DU CARBACHOL SUR LE CONTENU EN AMP CYCLIQUE DU GANGLION CERVICAL SUPERIEUR DE VEAU

Les morceaux de tissu sont préincubés pendant 30 min. dans du Locke puis plongés pendant 3 min. dans du Locke contenant du carbachol aux concentrations indiquées et de la théophylline 10 mM (seulement de la théophylline pour les contrôles). Les résultats sont exprimés en pourcentage des valeurs de contrôle $\pm$ SEM.

III.b. Dopamine et agents α -adrénergiques

III.b.1. Introduction

Les observations mentionnées ci-dessus, mises en parallèle avec

es travaux de LIBET sur les potentiels postsynaptiques lents (LIBET B., 1970) ont permis d'élaborer l'hypothèse illustrée à la figure 7. Selon cette hypothèse, la stimulation du nerf préganglionnaire libère de l'acétylcholine qui dépolarise les cellules intensément fluorescentes en agissant sur un récepteur muscarinique. Ces cellules libèrent de la dopamine qui active une adénylate cyclase située sur la membrane postsynaptique. L'AMP cyclique ainsi produit est à l'origine du potentiel postsynaptique inhibiteur lent (GREENGARD P. et KEBABIAN J.W., 1974).

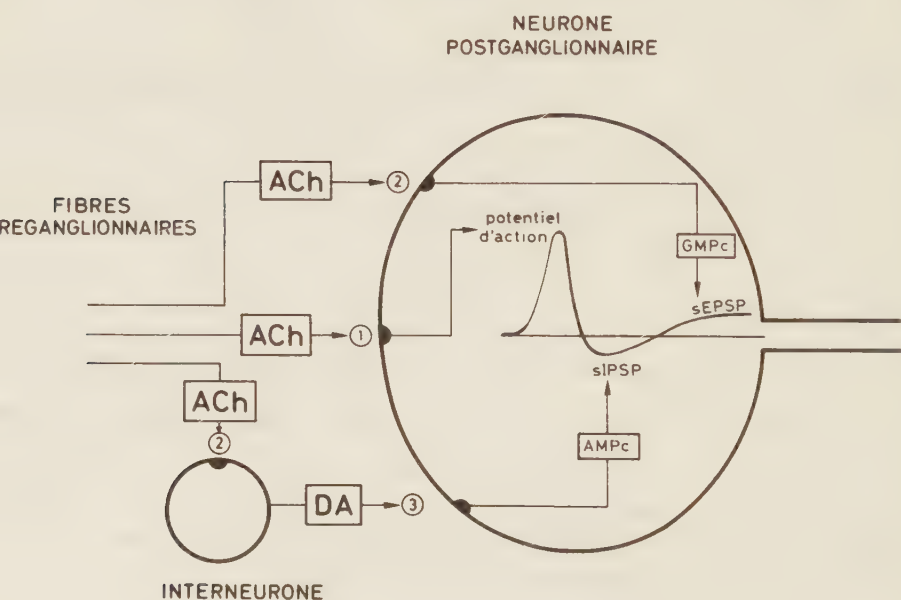


FIGURE 7 : SCHEMA FONCTIONNEL DE LA SYNAPSE DU GANGLION CERVICAL SUPERIEUR DE MAMMIFERE.

ACh = acétylcholine; AMPc = AMP cyclique; GMPc = GMP cyclique; s-IPSP = potentiel postsynaptique inhibiteur lent; s-EPSP = potentiel postsynaptique excitateur lent. (1) Récepteur nicotinique, bloqué par l'hexaméthonium; (2) Récepteurs muscariniques, bloqués par l'atropine; (3) Récepteur α -adrénergique.

Les antagonistes α -adrénergiques sont efficaces contre l'accumulation d'AMP cyclique dans le ganglion de lapin. Malheureusement, les agonistes adrénergiques, n'ont aucun effet sur le taux d'AMP cyclique de ce tissu (tableau III). Cela peut être dû à l'impossibilité pour ces substances d'atteindre la région synaptique, à une métabolisation très rapide ou à des mécanismes de captation.

Par contre les ganglions de veau (KEBABIAN J.W., GREENGARD, P., 1971 ; ROCH Ph. et KALIX P., 1975), et de rat (CRAMER H. et al., 1973) accumulent l'AMP cyclique lorsqu'ils sont incubés en présence de catécholamines.

TABLEAU III : EFFET DE SYMPATHOMIMETIQUES SUR LE CONTENU EN AMP CYCLIQUE DU GANGLION CERVICAL SUPERIEUR DE LAPIN

Les échantillons de tissu sont préincubés pendant 30 min dans du Locke puis transférés dans des flacons contenant les substances mentionnées pour les durées indiquées. Les résultats sont exprimés en pmoles d'AMP cyclique par mg de protéines $\pm$ SEM. La teneur en AMP cyclique après incubation 30 min dans du Locke est de $16,1 \pm 3,8$ (9). Le nombre d'expériences figure entre parenthèses.

	3 min.	6 min.	18 min.
théophylline 10 mM	$34,0 \pm 4,3$ (3)	$36,2 \pm 9,6$ (6)	23,0
isoprénaline 100 M + théophylline 10 mM	$35,3 \pm 3,7$ (5)		$23,9 \pm 4,8$ (3)
noradrénaline 100 M + théophylline 10 mM	34,3 (2)	$32,5 \pm 3,6$ (5)	22,2 (2)

III.b.2. Ganglion cervical supérieur

Toutes les incubations des ganglions cervicaux supérieurs de veau ont été faites en présence de théophylline, un inhibiteur de la phospho-

stérase, sans laquelle aucune augmentation d'AMP cyclique n'est perceptible. La quantité d'AMP cyclique contenue dans les morceaux de ganglions traités est comparée à des échantillons de contrôle incubés en présence de théophylline seulement. Dans ces conditions, la dopamine provoque une accumulation d'AMP cyclique qui atteint un maximum dès 9 min. d'incubation (figure 8). La dopamine parvient à augmenter jusqu'à 3 fois le taux d'AMP cyclique dans le ganglion de veau. L'effet maximal est obtenu avec une concentration d'environ $8 \mu\text{M}$ (figure 9).

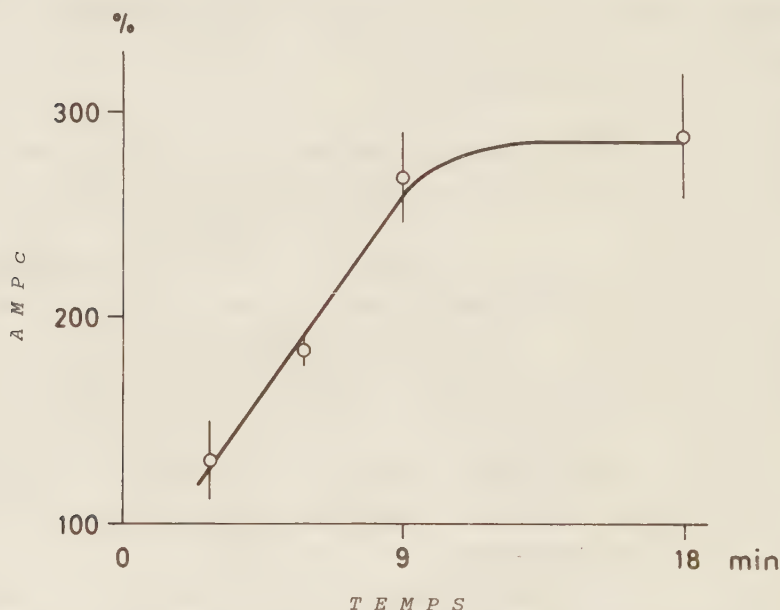


FIGURE 8 : ACCUMULATION D'AMP CYCLIQUE DANS LE GANGLION CERVICAL SUPERIEUR DE VEAU SOUS L'EFFET DE LA DOPAMINE, EN FONCTION DU TEMPS

Les morceaux de tissu sont préincubés 30 min. dans du Locke puis ils sont transférés dans du Locke contenant de la dopamine $100 \mu\text{M}$ et de la théophylline 10 mM pour les durées indiquées. Les résultats sont exprimés en pourcent des valeurs de contrôle $\pm$ SEM. Nombre d'expériences: de 3 à 14.

L'effet de la dopamine peut être complètement bloqué par la phénoxybenzamine, et partiellement par l'halopéridol ou par la phénotolamine, par contre l'inhibiteur β 1-propanolol est sans effet (tableau IV). L'efficacité relative des inhibiteurs est comparable à celle qui a été observée dans le cas de la stimulation électrique du ganglion de lapin (KALIX P. et al., 1974). Là aussi, la phénoxybenzamine inhibe complète-

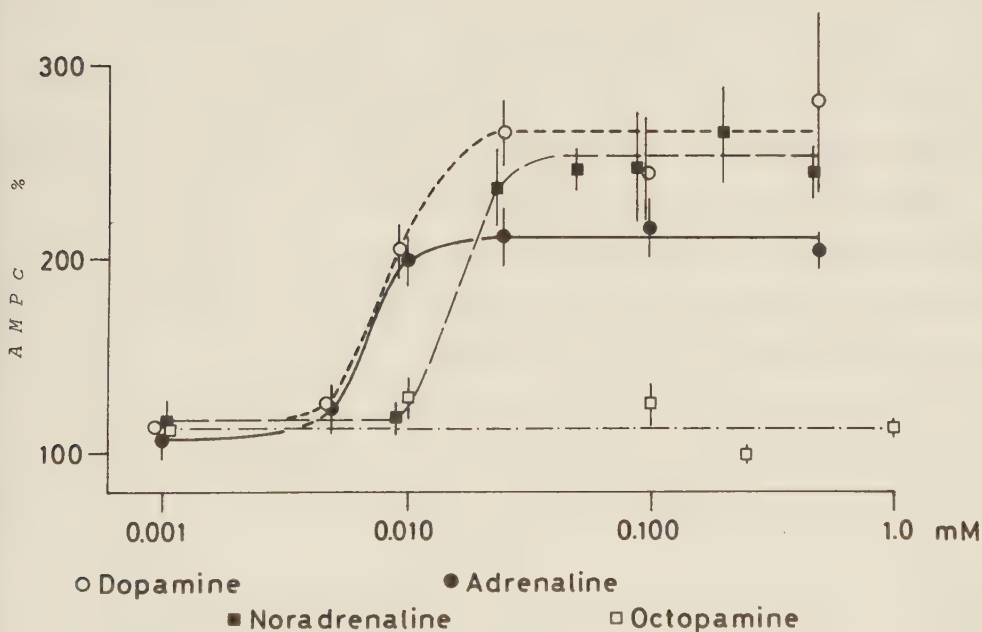


FIGURE 9 : ACCUMULATION D'AMP CYCLIQUE DANS LE GANGLION CERVICAL SUPERIEUR DE VEAU SOUS L'EFFET DE DIVERSES AMINES

Les morceaux de tissu sont préincubés 30 min. dans du Locke puis 9 min. dans du Locke contenant de la théophylline 10 mM et l'une des substances indiquées. Les résultats sont exprimés en pourcent des valeurs de contrôle $\pm$ SEM. Nombre d'expériences: de 3 à 17.

l'accumulation d'AMP cyclique, alors que l'haloperidol et la phénazine ont un effet partiel, et que le β -bloqueur sotalol (MJ 1999) n'a pas d'effet. Le parallélisme de ces situations donne la possibilité d'effectuer des transpositions entre les tissus du veau et du lapin avec une certaine sécurité.

Le ganglion de veau accumule de l'AMP cyclique sous l'effet d'au-
catécholamines telles que l'adrénaline et la noradrénaline (figure 1). L'adrénaline parvient à doubler le taux d'AMP cyclique, avec un K_M apparent d'environ $7.10^{-6}M$. Cet effet est partiellement inhibé par la phénoxybenzamine. La phentolamine est très peu efficace; en outre, l'effet de l'adrénaline est très fortement réduit par le l-propranolol et, dans une moindre mesure par le sotalol (tableau IV). L'accumulation d'AMP cyclique par l'adrénaline est donc médiée par deux types de récepteurs, les récepteurs α - et β -adrénergiques.

La noradrénaline augmente le taux d'AMP cyclique d'environ 2,5 fois, avec un K_M apparent de $16.10^{-6}M$. Elle n'est antagonisée efficacement que par la phénoxybenzamine (tableau IV).

TABLEAU IV : EFFET DE QUELQUES INHIBITEURS SUR L'ACCUMULATION D'AMP CYCLIQUE PAR LES CATECHOLAMINES DANS LE GANGLION CERVICAL SUPERIEUR DE VEAU

(voir la page suivante) Les échantillons de tissu sont préincubés 30 min dans du Locke ou 15 min dans du Locke et 15 min dans du Locke contenant l'inhibiteur. Ils sont ensuite transférés pour 9 min dans du Locke contenant de la théophylline 10 mM et l'inhibiteur indiqué. Les résultats sont exprimés en pourcent des valeurs de contrôle $\pm$ SEM. Entre parenthèses = nombre d'expériences.

	contrôle	dopamine 25 μ M	noradrénaline 25 μ M	adrénaline 25 μ M
contrôle	100 $\pm$ 5 (10)	311 $\pm$ 24 (9)	337 $\pm$ 21 (17)	212 $\pm$ 15 (14)
phentolamine				
" 25 μ M		441 $\pm$ 37 (3)	261 $\pm$ 20 (5)	187 $\pm$ 23 (3)
" 50 μ M		341 $\pm$ 16 (3)		223 $\pm$ 44 (3)
" 100 μ M		235 $\pm$ 22 (3)		176 $\pm$ 9 (3)
phénoxybenzamine				
" 0,5 μ M				213 $\pm$ 21 (3)
" 5 μ M				136 $\pm$ 9 (3)
" 10 μ M				129 $\pm$ 16 (3)
" 25 μ M	78 $\pm$ 3 (3)	335 $\pm$ 54 (6)	102 $\pm$ 19 (3)	124 $\pm$ 9 (5)
" 100 μ M		116 $\pm$ 12 (3)		
halopéridol				
" 25 μ M		225 $\pm$ 37 (6)		192 $\pm$ 4 (3)
" 50 μ M		229 $\pm$ 11 (3)		331 $\pm$ 40 (3)
" 100 μ M		181 $\pm$ 16 (3)		182 $\pm$ 40 (3)
pimozide				
" 100 μ M		322 $\pm$ 55 (3)	256 $\pm$ 16 (3)	247 $\pm$ 20 (3)
d,l-propranolol				
" 25 μ M			216 $\pm$ 32 (3)	
d-propranolol				
" 2,5 μ M				167 $\pm$ 17 (3)
l-propranolol				
" 0,05 μ M				225 $\pm$ 18 (3)
" 0,1 μ M				138 $\pm$ 22 (3)
" 1,0 μ M				143 $\pm$ 32 (3)
" 2,5 μ M	95 $\pm$ 7 (3)	372 $\pm$ 52 (3)		117 $\pm$ 7 (6)
" 5,0 μ M				117 $\pm$ 12 (3)
sotalol				
" 5 μ M				162 $\pm$ 28 (3)
" 25 μ M				143 $\pm$ 8 (3)
" 50 μ M			282 $\pm$ 28 (3)	147 $\pm$ 10 (3)
" 100 μ M				156 $\pm$ 19 (3)

La question peut être posée de savoir si la dopamine exogène agit elle-même ou seulement après transformation en noradrenaline ou en adrenaline. Des expériences ont été faites avec le diéthylthiocarbamate, un inhibiteur de la dopamine β -oxydase qui n'affecte pas la captation des noradrolamines (GOLSTEIN M. et al., 1964), ou le disulfirame qui se transforme en diéthylthiocarbamate dans le milieu d'incubation (ROCH Ph. et CALIX P., 1975a). Ces inhibiteurs, loin de diminuer l'effet de la dopamine, l'ont même augmenté (Tableau V) montrant ainsi que la dopamine agit elle-même par elle-même une accumulation d'AMP cyclique dans le ganglion cervical supérieur de veau.

TABLEAU V : EFFET DE LA DOPAMINE SUR LE CONTENU EN AMP CYCLIQUE DU GANGLION CERVICAL SUPERIEUR DE VEAU EN ABSENCE OU EN PRESENCE D'INHIBITEURS DE LA DOPAMINE β -OXYDASE

Les échantillons de tissu sont préincubés 15 min dans du Locke, puis 15 min dans du Locke contenant l'inhibiteur. Ils sont transférés pour 9 min dans du Locke contenant l'inhibiteur (500 μ M), de la dopamine 10^{-4} M et de la théophylline 10 mM. Les valeurs de contrôle se réfèrent à une incubation dans du Locke contenant de la théophylline.

n = nombre d'expériences.

Condition	pmol AMP cyclique mg protéines	% du contrôle	n
Contrôle	21,5 $\pm$ 1,9	100 $\pm$ 9	5
Dopamine	67,9 $\pm$ 6,1	316 $\pm$ 29	3
Diéthylthiocarbamate	21,6 $\pm$ 1,3	100 $\pm$ 6	4
Diéthylthiocarbamate + dopamine	79,9 $\pm$ 5,2	372 $\pm$ 24	5
Disulfiramine + dopamine	97,7 $\pm$ 8,5	454 $\pm$ 39	6

Un agoniste α , la phényléphrine n'a pas d'effet sur le taux d'AMP cyclique du ganglion de veau aux concentrations utilisées (tableau VI). Un transmetteur nerveux des invertébrés, l'octopamine, semble jouer un rôle dans la transmission noradrénergique chez les mammifères (AXELROD J. et SAAVEDRA J.M., 1977), et a été identifié dans les

TABLEAU VI: *EFFET DE LA PHENYLEPHRINE SUR LE TAUX D'AMP CYCLIQUE
DU GANGLION CERVICAL SUPERIEUR DE VEAU*

Les résultats sont exprimés en pourcent du contrôle $\pm$ SEM. Entre parenthèses le nombre d'expériences. Préincubation: 30 min. dans du Locke; incubation: 9 min. dans du Locke + théophylline + phényléphrine.

<i>contrôle</i>	<i>phényléphrine 25 μM</i>
	<i>+ théophylline 10 mM</i>
<i>100 $\pm$ 5 (9)</i>	<i>103 $\pm$ 5 (6)</i>

terminaisons sympathiques du rat (MOLINOFF P. et AXELROD J., 1970). Il n'a pas d'effet sur le taux d'AMP cyclique du gnaglion cervical supérieur de veau (figure 9).

Les résultats présentés dans ce travail indiquent que la dopamine, la noradrénaline et l'adrénaline sont capables de provoquer l'accumulation d'AMP cyclique dans le ganglion cervical supérieur. Puisque les

ets de la dopamine et de la noradrénaline et une partie de l'effet de adrénaline ont une sensibilité aux inhibiteurs comparable, il est able que ces trois substances agissent sur le même type de récep-. L'absence d'effet de la phényléphrine (tableau VI) indique qu'il agit pas d'un récepteur α -adrénergique de type classique. Il a été mment proposé que la population des récepteurs α n'est pas aussi gène qu'on le pensait (BARKER K.A. et al., 1977). Le récepteur gan-onnaire sensible à la dopamine, à la noradrénaline et à l'adrénaline t être un récepteur dopaminergique ou un récepteur noradrénergique. e rat, ces récepteurs ont été discriminés au moyen d'inhibiteurs ifiques répartis en quatre classes (ANDEN N.E. et al., 1970):

Les substances qui inhibent seulement les effets de la dopamine (ex. imozide).

Les substances qui inhibent les effets de la dopamine, et, à des es beaucoup plus élevées, ceux de la noradrénaline (ex. halopéridol).

Les substances qui inhibent les effets de la dopamine et de la nora-aline au même degré (ex. chlorpromazine).

Les substances qui inhibent seulement les effets de la noradrénaline phénoxybenzamine).

Dans le ganglion cervical supérieur de veau, la pimozide et l'halo-idol sont incapables de bloquer l'effet des agonistes α -adrénergiques, rs que la phénoxybenzamine est très efficace (tableau IV). Il peut t être supposé que le ganglion cervical supérieur renferme des récep-rs noradrénergiques, activables par la noradrénaline, la dopamine et drénaline. Ces trois catécholamines sont présentes dans les ganglions

sympathiques de plusieurs espèces à des concentrations différentes, dans l'ordre noradrénaline < dopamine < adrénaline. Mais la localisation de ces catécholamines semble compartimentée et leur efficacité n'est pas forcément en relation directe avec leur concentration dans le ganglion total (LAVERTY R. et SHARMAN D., 1969 ; BJORKLUND A. et al., 1970 ; LIBET B. et OWMAN C., 1974 ; KOSLOW S.H. et al., 1975 ; PHILLIPSON O.T. et MOORE K.E., 1975 ; ABRAHAMSSON T. et NILSSON S., 1976).

Toutes les expériences dans le ganglion cervical supérieur de veau ont été faites en présence de théophylline. En son absence, aucune augmentation significative d'AMP cyclique n'est mesurable. Le taux d'AMP cyclique d'un ganglion au repos est augmenté par la théophylline

TABEAU VII : *EFFET DES INHIBITEURS DE LA PHOSPHODIESTERASE SUR LE CONTENU EN AMP CYCLIQUE DU GANGLION CERVICAL SUPERIEUR DE VEAU*

Les échantillons de tissu sont préincubés 30 min. dans du Locke puis transférés dans du Locke contenant l'un des inhibiteurs indiqués. Les résultats sont exprimés en pmoles d'AMP cyclique par mg. de protéines $\pm$ SEM. n = nombre d'expériences.

<i>Addition</i>	<i>incubation (min.)</i>	<i>n</i>	<i>pmol AMP cyclique/mg.prot.</i>
<i>Contrôle</i>	<i>3</i>	<i>17</i>	<i>14,8 $\pm$ 1,3</i>
<i>Théophylline 10 mM</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>18,6 $\pm$ 1,5</i>
<i>Théophylline 10 mM</i>	<i>6</i>	<i>18</i>	<i>18,2 $\pm$ 1,1</i>
<i>Théophylline 10 mM</i>	<i>9</i>	<i>23</i>	<i>18,0 $\pm$ 1,3</i>
<i>Théophylline 10 mM</i>	<i>18</i>	<i>5</i>	<i>16,6 $\pm$ 1,8</i>
<i>Ro 20-1724 0,18 mM</i>	<i>9</i>	<i>16</i>	<i>21,8 $\pm$ 1,1</i>

encore plus par un autre inhibiteur de la phosphodiesterase, le 0-1724 qui agit à des concentrations beaucoup plus faibles (Tableau VII). L'effet des inhibiteurs de phosphodiesterase met en évidence un turn-over constant de l'AMP cyclique dont on bloque ici la destruction.

La nécessité d'utiliser un inhibiteur de la phosphodiesterase est démontrée par les observations présentées à la figure 10. Dans ces expériences le taux d'AMP cyclique a été augmenté par la stimulation avec la noradrénaline dans un milieu contenant de la théophylline. Lorsque ensuite le tissu est transféré dans du Locke avec ou sans théophylline la dégradation de l'AMP cyclique est beaucoup plus lente en absence de théophylline qu'en présence de cet inhibiteur. Parfois, même en présence de théophylline, la phosphodiesterase n'est pas complètement inhibée et il y a dégradation de l'AMP cyclique. Cette observation est en accord avec les mesures d'activité de phosphodiesterase faites par (KEBABIAN et GREENGARD (1971) qui mettent en évidence une activité résiduelle de cette enzyme même en présence de théophylline 10 mM.

b.3. Nerf vague

Les investigations dans le ganglion cervical supérieur de veau ont été complétées par des expériences dans le nerf vague de lapin. Ce tissu avait déjà été utilisé par l'équipe de GREENGARD dans le but de démontrer que l'augmentation du taux d'AMP cyclique résultant d'une stimulation électrique est un phénomène synaptique. En effet, contrairement à ce qui se passe dans le ganglion, le taux d'AMP cyclique du nerf vague, tissu sans synapses, n'est pas augmenté par la stimulation électrique (McAFEE D.A. et al., 1971).

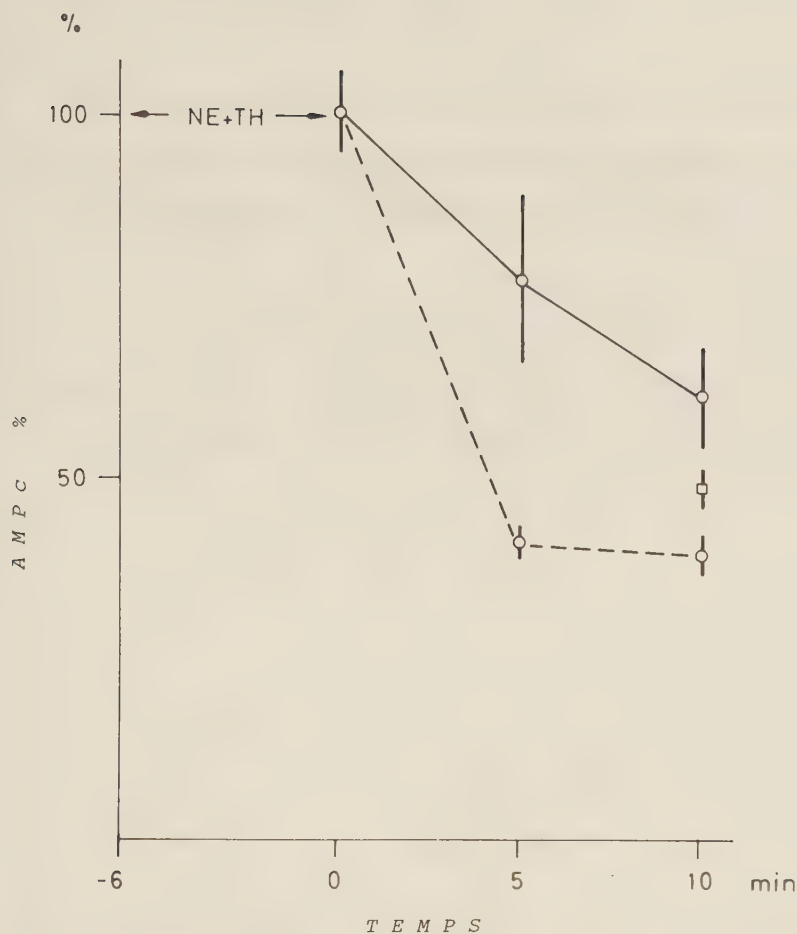


FIGURE 10 : DIMINUTION DU TAUX D'AMP CYCLIQUE DANS LE GANGLION CERVICAL SUPERIEUR DE VEAU APRES INCUBATION EN PRESENCE DE NORADRENALINE

Après préincubation dans du Locke pendant 30 min., les morceaux de tissu sont incubés pendant 6 min. en présence de théophylline 10 mM et de noradrénaline 100 μ M (NE). Ils sont ensuite transférés soit dans du Locke (0....0) soit dans du Locke contenant de la théophylline (0—0). Le contenu en AMP cyclique des morceaux de ganglion de contrôle, incubés pendant 18 min. dans du Locke contenant de la théophylline ($\square$) atteint 47,6 % $\pm$ 2,7 des valeurs stimulées par la noradrénaline. Les résultats sont exprimés en pourcent des valeurs stimulées $\pm$ SEM. 4 expériences pour chaque point.

Le contenu en AMP cyclique du nerf vague de lapin n'est pas non
s modifié par la dopamine ou la phényléphrine (Tableau VIII) et les
ibiteurs α -adrénergiques n'ont pas d'effet sur l'accumulation d'AMP
liquide par d'autres agents (Tableau IX).

Ces résultats permettent la conclusion que l'augmentation d'AMP
liquide résultant de la stimulation électrique ou de l'action de dopa-
e ou de phényléphrine est un phénomène exclusivement synaptique.

TABLEAU VIII : EFFET DES AGONISTES α -ADRENERGIQUES SUR LE CONTENU
EN AMP CYCLIQUE DU NERF VAGUE DE LAPIN

Après une préincubation de 30 min. dans du Locke,
les sections de nerfs sont incubées pendant 6 min. dans
du Locke contenant les agonistes. Les résultats sont
exprimés en pmoles d'AMP cyclique par mg. de protéines
 $\pm$ SEM. n = nombre d'expériences.

Addition	n	pmol./mg.
Contrôle	7	24,6 $\pm$ 3,2
dopamine 10^{-6} M	3	20,9 $\pm$ 3,3
dopamine 10^{-4} M	6	24,8 $\pm$ 3,2
phényléphrine 10^{-4} M	3	26,8 $\pm$ 2,8

TABEAU IX : EFFET DE QUELQUES INHIBITEURS SUR L'ACCUMULATION D'AMP CYCLIQUE PAR L'ISOPRENALINE OU L'ADRENALINE DANS LE NERF VAGUE DE LAPIN.

Les sections de nerfs sont préincubés soit 30 min dans du Locke, soit 15 min dans du Locke puis 15 min dans du Locke contenant les inhibiteurs indiqués. Elles sont ensuite transférées pour 6 min dans du Locke contenant les substances indiquées. Les résultats sont exprimés en pmoles d'AMP cyclique par mg de protéines $\pm$ SEM.

n = nombre d'expériences.

Addition	n	pmol AMPc/mg prot.
Contrôle	12	17,8 $\pm$ 2,2
Isoprénaline 2,5 μ M	6	61,8 $\pm$ 9,4
Isoprénaline + sotalol 5 μ M	3	24,5 $\pm$ 0,4
Isoprénaline + d-propranolol 2,5 μ M	3	37,0 $\pm$ 9,8
Isoprénaline + l-propranolol 2,5 μ M	3	9,9 $\pm$ 1,2
Adrénaline 50 μ M	9	63,8 $\pm$ 12,2
Adrénaline + phentolamine 50 μ M	4	60,5 $\pm$ 15,0
Adrénaline + sotalol 50 μ M	3	31,3 $\pm$ 2,0
Adrénaline + d,l-propranolol 5 μ M	3	19,5 $\pm$ 8,2

c. Agents β -adrénergiques

c.1. Introduction

L'effet des voies β -adrénergiques a été relativement peu étudié dans le système nerveux. On leur attribue un rôle dans la glycogénolyse (WILKENING M. et MAKMAN M.H., 1976) et dans l'hyperpolarisation des cellules cervicales de Purkinje (BLOOM F.E., 1975). Les antagonistes β -adrénergiques réduisent l'augmentation du taux d'AMP cyclique provoquée par la noradrénaline dans le ganglion cervical supérieur de veau (KEBABIAN J.W. et GREENGARD P., 1971).

c.2. Ganglion cervical supérieur

Il a été mentionné plus haut que dans le ganglion cervical supérieur de veau, l'accumulation d'AMP cyclique provoquée par l'adrénaline est partiellement inhibée par des agents β -adrénolytiques (tableau IV). L'isoprénaline, en présence de théophylline, peut doubler le taux d'AMP cyclique du ganglion (figure 11). La concentration pour l'effet demi-maximal (K_M) est d'environ $6,5 \mu M$. Cet effet de l'isoprénaline n'est pas affecté par la phénoxybenzamine. Par contre il est partiellement inhibé par le sotalol, un bloqueur β -adrénergique non agoniste sans propriétés agonistes (LISH P.M. et al., 1965), et aboli par de faibles doses de 1-propranolol, un β -adrénolytique plus puissant que le sotalol (PATIL P.N. et al., 1975), (tableau X).

TABLEAU X : EFFET DE QUELQUES INHIBITEURS SUR L'ACCUMULATION D'AMP CYCLIQUE PAR L'ISOPRENALINE DANS LE GANGLION CERVICAL SUPERIEUR DE VEAU.

Les morceaux de ganglion sont préincubés pendant 30 min dans du Locke ou pendant 15 min dans du Locke et 15 min en présence des inhibiteurs indiqués. Ils sont ensuite transférés pour une durée de 9 min dans du Locke contenant les inhibiteurs indiqués. Les résultats sont exprimés en pourcent des valeurs de contrôle $\pm$ SEM. Le nombre d'expériences figure entre parenthèses.

Traitement	AMP cyclique
isoprénaline 25 μ M	197 $\pm$ 9 (9)
isoprénaline 25 μ M + phénoxybenzamine 25 μ M	222 $\pm$ 21 (3)
isoprénaline 25 μ M + 1-propranolol 2,5 μ M	169 $\pm$ 10 (3)
+ " 10,0 μ M	109 $\pm$ 8 (3)
isoprénaline 25 μ M + sotalol 50 μ M	146 $\pm$ 9 (3)
+ " 500 μ M	125 $\pm$ 13 (3)

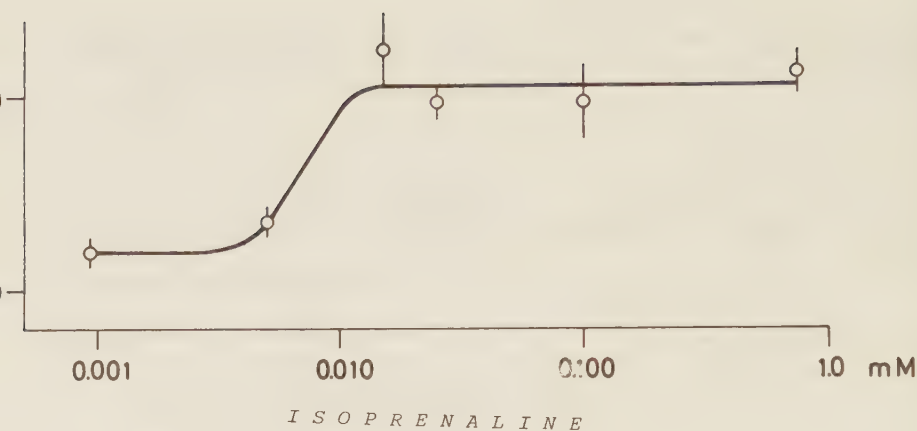


FIGURE 11 : ACCUMULATION D'AMP CYCLIQUE DANS LE GANGLION CERVICAL SUPERIEUR DE VEAU SOUS L'EFFET DE L'ISOPRENALINE

Les morceaux de ganglion, après préincubation pendant 30 min. dans du Locke, sont transférés pour une durée de 9 min. dans du Locke contenant de l'isoprénaline aux concentrations indiquées. Les résultats sont exprimés en pourcent des valeurs de contrôle $\pm$ SEM. Nombre d'expériences : entre 3 et 9.

II.c.3. Nerf vague

Dans le nerf vague de lapin l'isoprénaline provoque une accumulation rapide d'AMP cyclique qui atteint en 3 min. un maximum égal à trois fois le taux de contrôle (figure 12). L'adrénaline fait augmenter la concentration d'AMP cyclique dans le nerf vague jusqu'à un niveau identique à celui obtenu par l'isoprénaline, mais la concentration nécessaire d'adrénaline est environ 20 fois supérieure à celle d'isoprénaline. Le K_M de l'isoprénaline est de $5 \cdot 10^{-7} M$ et celui de l'adrénaline de $8 \cdot 10^{-6} M$ (figure 13). L'augmentation du taux d'AMP

cyclique tant par l'isoprénaline que par l'adrénaline est complètement inhibée par le propranolol et fortement réduite par le sotalol. Par contre, l'effet de l'adrénaline n'est pas modifié par les inhi-

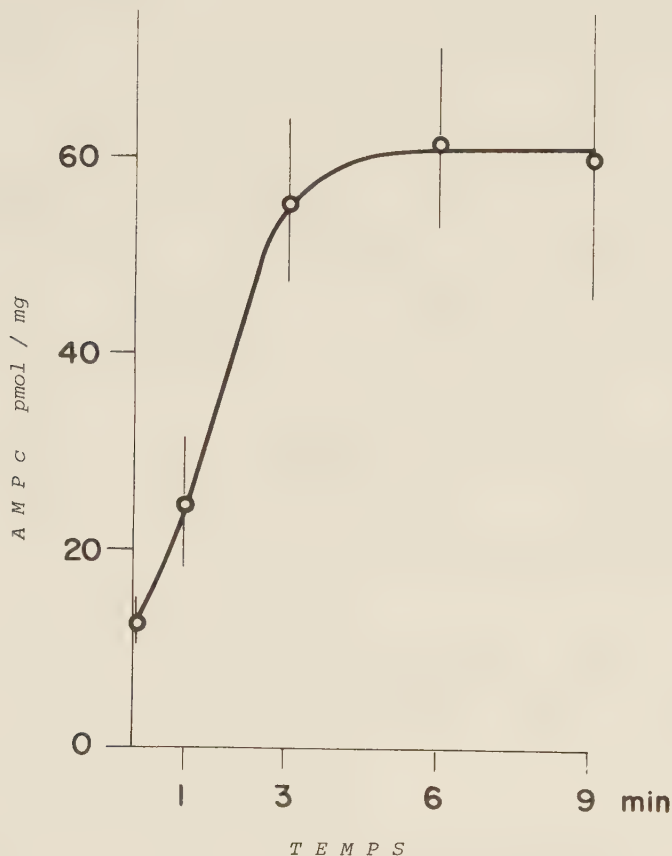


FIGURE 12 : ACCUMULATION D'AMP CYCLIQUE DANS LE NERF VAGUE DE LAPIN PAR L'ISOPRENALINE EN FONCTION DU TEMPS

Les sections de nerf sont préincubées pendant 30 min. dans du Locke puis transférées pour les durées indiquées dans du Locke contenant de l'isoprénaline $2,5 \mu\text{M}$. Les résultats sont exprimés en pmoles d'AMP cyclique par mg. de protéines $\pm$ SEM. Nombre d'expériences: 3 à 9.

eurs α -adrénergiques (tableau IX). Contrairement à la situation
s le ganglion, l'effet de l'adrénaline dans le nerf vague est pu-
ent β -adrénergique.

La théophylline n'a pas d'effet sur le contenu d'AMP cyclique
nerf vague, qu'il soit au repos ou bien stimulé par l'isopréna-

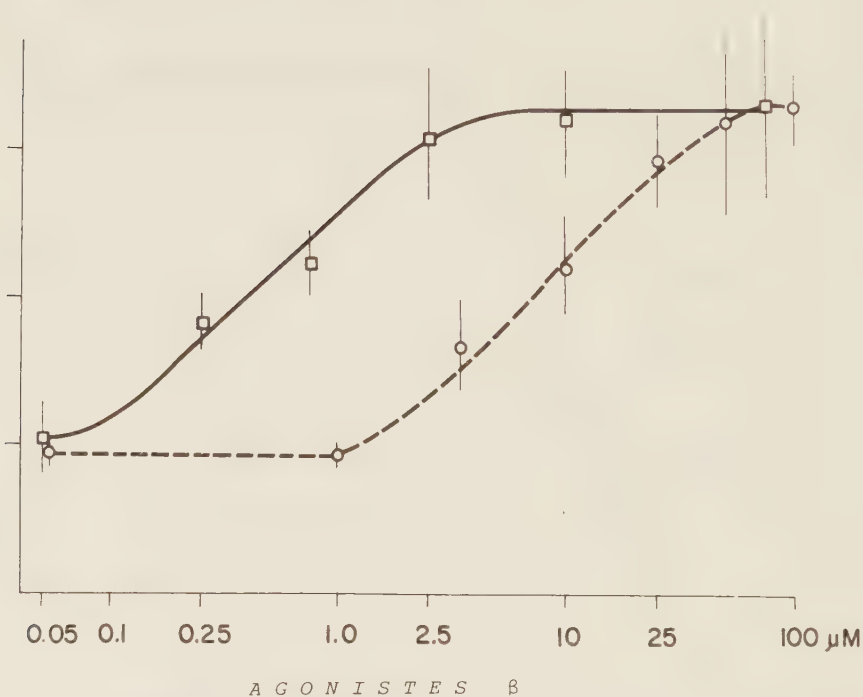


FIGURE 13 : ACCUMULATION D'AMP CYCLIQUE DANS LE NERF VAGUE DE LAPIN
PAR LES AGONISTES β -ADRENERGIQUES

Les sections de nerf, après préincubation pendant
30 min. dans du Locke, sont incubées pendant 6 min. en
présence d'isoprénaline ($\square$) ou d'adrénaline (O) aux
concentrations indiquées. Les résultats sont exprimés
en pmoles d'AMP cyclique par mg. de protéines $\pm$ SEM.
Nombre d'expériences: de 3 à 12.

line (tableau XI). De plus lorsqu'un nerf a été stimulé par de l'isoprénaline et qu'il est ensuite transféré dans du Locke, son taux d'AMP cyclique décroît très lentement (figure 14). Ces observations indiquent que contrairement à ce qui se passe dans le ganglion cervical supérieur de veau, la phosphodiesterase du nerf vague, s'il y en a, n'est pas très active. Cela signifie que l'action dont l'AMP cyclique est le médiateur dans le nerf vague est susceptible de se prolonger pendant plusieurs minutes.

Il a ainsi été mis en évidence un mécanisme d'accumulation d'AMP cyclique par l'intermédiaire d'un récepteur β -adrénergique tant dans le ganglion cervical supérieur de veau que dans le nerf

TABLEAU XI : *EFFET DE LA THEOPHYLLINE SUR LE CONTENU EN AMP CYCLIQUE DU NERF VAGUE DE LAPIN*

Les sections de nerf sont préincubées pendant 30 min. dans du Locke puis transférées pour 6 min. dans du Locke contenant les substances indiquées. Les résultats sont exprimés en pmoles d'AMP cyclique par mg. de protéines $\pm$ SEM. n = nombre d'expériences.

Addition	n	pmol AMPc/mg.prot.
Contrôle	3	17,9 $\pm$ 2,6
Théophylline $10^{-2}M$	5	16,0 $\pm$ 1,5
Isoprotérénol $2,5 \cdot 10^{-6}M$	9	61,8 $\pm$ 9,4
Isoprotérénol + théophylline	9	60,2 $\pm$ 11,8

que de lapin. Contrairement à l'accumulation α -stimulée, localisée à la synapse, l'accumulation β -stimulée n'est pas un phénomène spécifiquement synaptique puisqu'elle est présente dans le nerf vague. Cette accumulation β -sensible se fait soit le long des axones, soit dans les cellules gliales (cellules de Schwann).

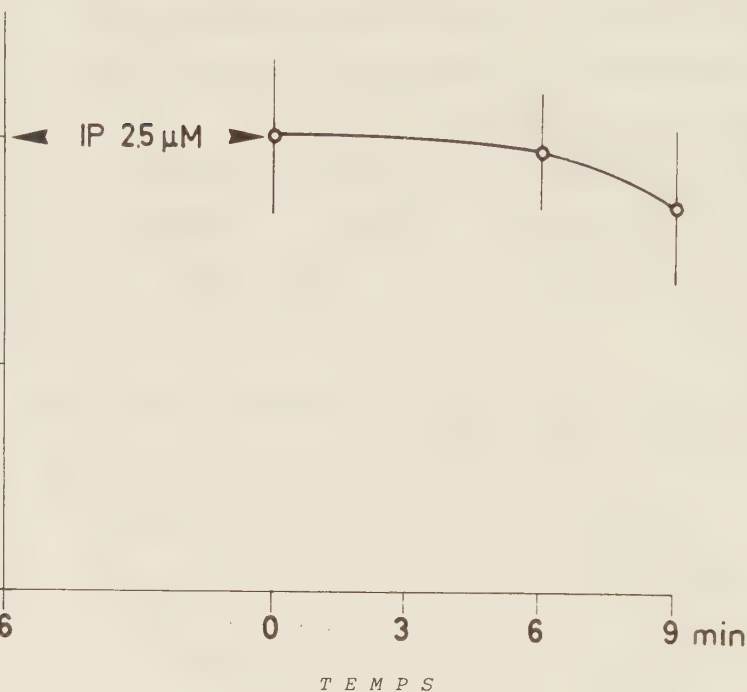


FIGURE 14 : MAINTIEN DU TAUX D'AMP CYCLIQUE APRES STIMULATION DU NERF VAGUE DE LAPIN PAR L'ISOPRENALINE (IP)

Les sections de nerf sont préincubées pendant 30 min. dans du Locke puis incubées pendant 6 min. en présence d'isoprénaline. Elles sont ensuite transférées dans du Locke pour les durées indiquées. Les résultats sont exprimés en pourcent des valeurs stimulées $\pm$ SEM. Nombre d'expériences: 3 pour chaque point.

Dans le cerveau, il a été montré que les agonistes β -adrénergiques stimulent spécifiquement la glycogénolyse (WILKENING D. et MAKMAN M., 1976). Une telle fonction dans le nerf vague serait en accord avec la persistance du taux élevé d'AMP cyclique, et probablement de son effet, pendant plusieurs minutes après la stimulation.

III.d. Effet de l'adénosine

III.d.1. Introduction

L'adénosine et ses dérivés phosphorylés ont une action dépressive sur les neurones du cortex cérébral (PHILLIS J.W. et KOSTOPOULOS G.K., 1975). D'autre part il a été montré que l'adénosine provoque une augmentation de l'AMP cyclique dans le cortex cérébral (SATTIN A. et RALL T.W., 1970). La pharmacologie de ces deux effets suggère qu'ils sont produits par l'intermédiaire du même récepteur, mais l'intervention de l'AMP cyclique dans l'effet dépresseur de l'adénosine reste à démontrer. Il a été suggéré que l'action de l'adénosine dans le système nerveux central est un phénomène synaptique (PHILLIS J.W. et KOSTOPOULOS G.K., 1975).

III.d.2. Ganglion cervical supérieur

Dans le ganglion cervical supérieur de veau, l'adénosine seule ou en présence d'inhibiteur de la phosphodiesterase n'a aucun effet sur le taux d'AMP cyclique. Parce que les méthylxanthines ont en plus de leur propriété inhibitrice de la phosphodiesterase, une capacité d'inhiber compétitivement le récepteur à adénosine (SATTIN A. et

ALL T.W., 1970), il a été utilisé non seulement de la théophylline, mais aussi du Ro 20-1724 un inhibiteur de la phosphodiesterase dont la structure ne ressemble pas à celle de l'adénosine (tableau XII).

Des essais sur le lapin ont confirmé l'absence d'effet de l'adénosine sur le ganglion cervical supérieur (tableau XII).

TABLEAU XII : *EFFET DE L'ADENOSINE SUR LE CONTENU EN AMP CYCLIQUE
DES GANGLIONS CERVICAUX SUPERIEURS DE VEAU
ET DE LAPIN*

*Les échantillons de tissu sont préincubés pendant 30 min. dans du Locke puis transférés pour 9 min. dans du Locke contenant les substances indiquées. Les résultats sont exprimés en pourcent du contrôle $\pm$ SEM.
n = nombre d'expériences.*

<i>Addition</i>	<i>n</i>	<i>AMP cyclique % du contrôle</i>
<i><u>ganglion cervical supérieur de veau</u></i>		
<i>contrôle</i>	<i>12</i>	<i>100 $\pm$ 9</i>
<i>adénosine 0,1 mM</i>	<i>7</i>	<i>93 $\pm$ 3</i>
<i>adénosine 0,1 mM + théophylline 10 mM</i>	<i>5</i>	<i>105 $\pm$ 11</i>
<i>adénosine 0,1 mM + Ro 20 - 1724 0,18 mM</i>	<i>3</i>	<i>103 $\pm$ 4</i>
<i><u>ganglion cervical supérieur de lapin</u></i>		
<i>contrôle</i>	<i>4</i>	<i>100 $\pm$ 16</i>
<i>adénosine 0,1 mM</i>	<i>4</i>	<i>121 $\pm$ 11</i>

III.d.3. Nerf vague

Par contre, la concentration d'AMP cyclique a pu être augmentée dans le nerf vague par application d'adénosine. L'accumulation d'AMP cyclique est rapide et atteint son maximum en 3 min. (figure 15);

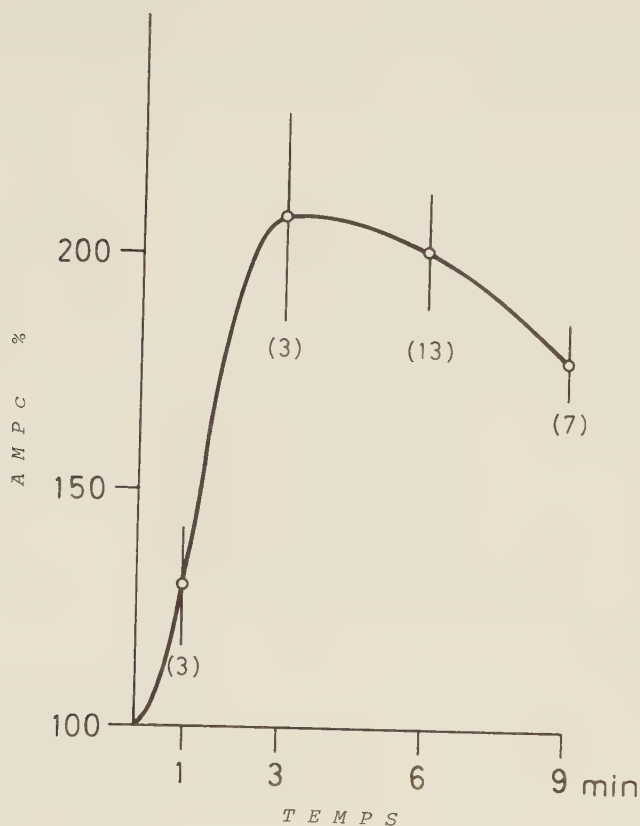


FIGURE 15 : ACCUMULATION D'AMP CYCLIQUE DANS LE NERF VAGUE DE LAPIN SOUS L'EFFET DE L'ADENOSINE EN FONCTION DU TEMPS

Les sections de nerf sont préincubées pendant 30 min. dans du Locke puis transférées dans du Locke contenant de l'adénosine 100 μ M pour les durées indiquées. Les résultats sont exprimés en pourcent des valeurs de contrôle $\pm$ SEM. Le nombre d'expériences figure entre parenthèses.

l'effet est maximal à une concentration d'adénosine de 500 μM ; il se stabilise à 1 mM et au-delà, à un taux de 230 % des valeurs de contrôle (figure 16). Parmi les nombreuses substances connues pour inhiber l'accumulation d'AMP cyclique dans divers tissus, seule la théophylline est capable d'antagoniser l'effet de l'adénosine sur le contenu en AMP cyclique du nerf vague de lapin (figure 17). Les inhibiteurs α -adrénergiques, β -adrénergiques, dopaminergiques, muscariniques,

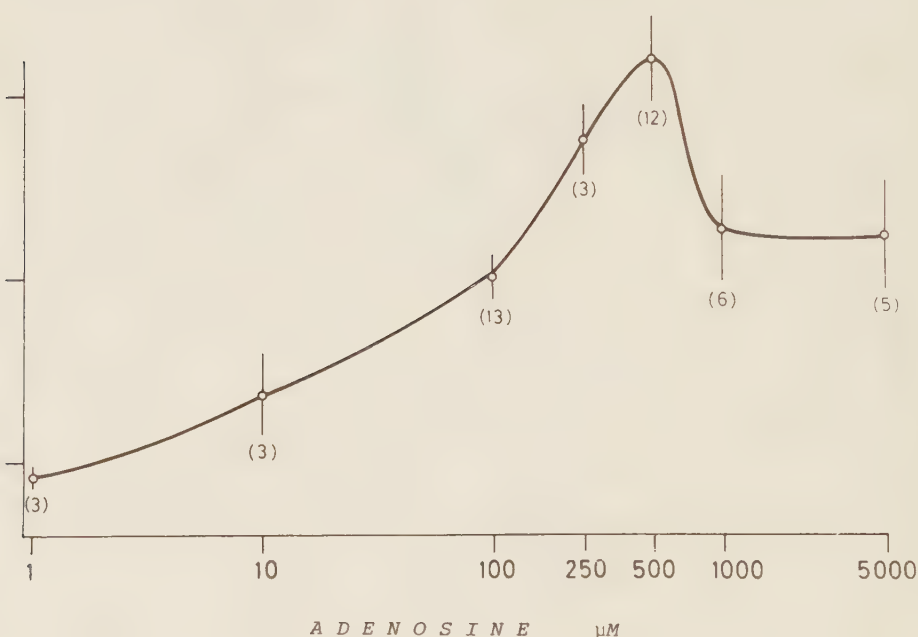


FIGURE 16 : ACCUMULATION D'AMP CYCLIQUE DANS LE NERF VAGUE DE LAPIN SOUS L'EFFET DE L'ADENOSINE

Les sections de nerf sont préincubées pendant 30 min. dans du Locke puis transférées pour une durée de 6 min. dans du Locke contenant de l'adénosine aux concentrations indiquées. Les résultats sont exprimés en pourcent des valeurs de contrôle $\pm$ SEM. Le nombre d'expériences figure entre parenthèses.

nicotiniques et les anesthésiques locaux sont sans effet (tableau XIII).

L'inhibition spécifique de l'effet de l'adénosine par la théophylline



FIGURE 17 : INHIBITION PAR LA THEOPHYLLINE DE L'ACCUMULATION D'AMP CYCLIQUE PROVOQUEE PAR L'ADENOSINE DANS LE NERF VAGUE DE LAPIN

Première colonne: effet de l'adénosine 100 μ M.
De la deuxième à la cinquième colonne: inhibition de l'effet de l'adénosine 100 μ M par la théophylline 1, 2,5, 5 et 10 mM. Préincubation: 30 min. dans du Locke. Incubation: 6 min. dans du Locke contenant l'adénosine et, le cas échéant, la théophylline. Les résultats sont exprimés en pourcent des valeurs de contrôle $\pm$ SEM.
Nombre d'expériences: 3 ou 4 pour chaque point.

indique la présence dans le nerf vague d'un récepteur à adénosine, facteur de l'accumulation d'AMP cyclique. Puisqu'un tel récepteur n'existe dans le ganglion cervical supérieur, l'effet de l'adénosine dans le système nerveux périphérique n'est pas synaptique, mais soit axonal soit al.

TABLEAU XIII : *EFFET DE DIVERS INHIBITEURS SUR L'ACCUMULATION D'AMP CYCLIQUE PAR L'ADENOSINE DANS LE NERF VAGUE DE LAPIN*

Les sections de nerf sont préincubées pendant 15 min. dans du Locke, puis pendant 15 min. en présence de l'inhibiteur et enfin 6 min. en présence d'adénosine 100 μ M et de l'inhibiteur. Les résultats sont exprimés en pourcent des valeurs de contrôle $\pm$ SEM. n = nombre d'expériences.

Inhibiteurs	n	pourcent
Control	13	201 $\pm$ 12
haloperidol 0,05 mM	5	281 $\pm$ 40
pentolamine 0,1 mM	3	269 $\pm$ 43
propranolol 0,1 mM	3	223 $\pm$ 49
atropine 0,05 mM	5	226 $\pm$ 40
hexamethonium 0,5 mM	6	270 $\pm$ 21
tracaine 1 mM	6	354 $\pm$ 24
procaine 1 mM	6	224 $\pm$ 31
strychnine 0,003 mM	6	217 $\pm$ 37

L'ATP a un effet semblable à celui de l'adénosine; il provoque une accumulation d'AMP cyclique qui peut atteindre 3,5 fois les valeurs de contrôle. La concentration d'ATP pour l'effet demi-maximal (K_M) se situe vers 35 μM (figure 18). L'effet de l'ATP est inhibé par la théophylline (tableau XIV). Il est donc probable que l'ATP agisse par l'intermédiaire du récepteur à adénosine et non pas en qualité de substrat de l'adénylate cyclase. Toutefois, il est possible que ce soit non pas

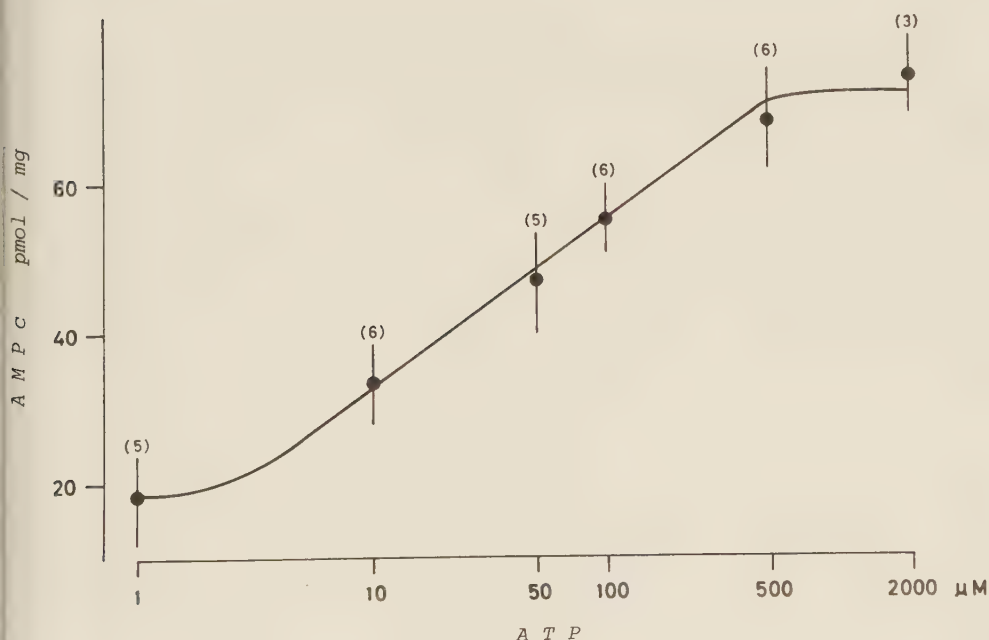


FIGURE 18 : ACCUMULATION D'AMP CYCLIQUE SOUS L'EFFET DE L'ATP DANS LE NERF VAGUE DE LAPIN

Après préincubation pendant 30 min. dans du Locke, les sections de nerf sont transférées dans du Locke contenant de l'ATP aux concentrations indiquées. Les résultats sont exprimés en pmoles d'AMP cyclique par mg. de protéines $\pm$ SEM. Entre parenthèses: nombre d'expériences

BLEAU XIV : INHIBITION PAR LA THEOPHYLLINE DE L'ACCUMULATION D'AMP
CYCLIQUE INDUITE PAR L'ATP DANS LE NERF VAGUE
DE LAPIN

Les sections de nerf sont préincubées pendant 30 min. dans du Locke puis transférées pour 6 min. dans du Locke contenant les substances indiquées. Les résultats sont exprimés en pmoles d'AMP cyclique par mg. de protéines $\pm$ SEM. n = nombre d'expériences.

Incubation	n	AMPC pmol/mg.prot.
Contrôle	3	19,4 $\pm$ 4,2
P 100 μ M	3	63,6 $\pm$ 6,7
P 100 μ M + éophylline 10 mM	3	20,3 $\pm$ 3,3

ATP lui-même, mais l'un de ses métabolites qui agisse, d'autant plus que ATP, ADP, AMP et adénosine provoquent tous une accumulation d'AMP cyclique dans d'autres tissus. (SATTIN A. et RALL T.W., 1970; CLARK R.B. et GROSS R., 1974).

I.e. Agents dépolarisants

I.e.1. Introduction

Il est possible de dépolariser les membranes des cellules nerveuses remplaçant partiellement ou totalement le sodium du milieu d'incubation

par du potassium, (JIROUNEK P. et INGIGNOLI J.P., résultats non publiés; STRAUB R.W., 1956; KOSTERLITZ H.W. et al., 1968). D'autres substances provoquent également la dépolarisation de la membrane nerveuse, en particulier la vératridine, un alcaloïde qui augmente sélectivement la perméabilité au sodium (STRAUB R.W., 1956; NARAHASHI T., 1974).

Les agents dépolarisants figurent parmi les substances capables d'élever le taux d'AMP cyclique dans le système nerveux central. Il est en effet possible d'augmenter la teneur en AMP cyclique de tranches de cerveau de cobaye en élevant la concentration de potassium dans le milieu (SATTIN A. et RALL T.W., 1967). Cette observation a été plusieurs fois répétée (SHIMIZU H. et al., 1970; SHIMIZU H. et DALY J.W., 1972; SHIMIZU H. et al., 1973; HUANG M. et DALY J.W., 1974). Toutefois la complexité du phénomène et du tissu dans lequel il a été observé rend difficile l'interprétation de sa signification fonctionnelle. Pour cette raison il semblait intéressant d'étudier l'effet des dépolarisants dans un tissu plus simple que le cerveau.

III.e.2 Ganglion cervical supérieur

En absence de théophylline, il n'a pas été possible de mettre en évidence un effet significatif de fortes concentrations de potassium sur le taux d'AMP cyclique dans le ganglion cervical supérieur de veau (ROCH PH. et KALIX P., 1975). Par contre, en présence de théophylline

e potassium provoque une augmentation rapide de l'AMP cyclique, qui atteint son maximum dès 3 min. (figure 19). Le seuil d'efficacité du potassium se situe à une concentration d'environ 20 mM. Aux concentrations plus élevées, l'effet est approximativement proportionnel à

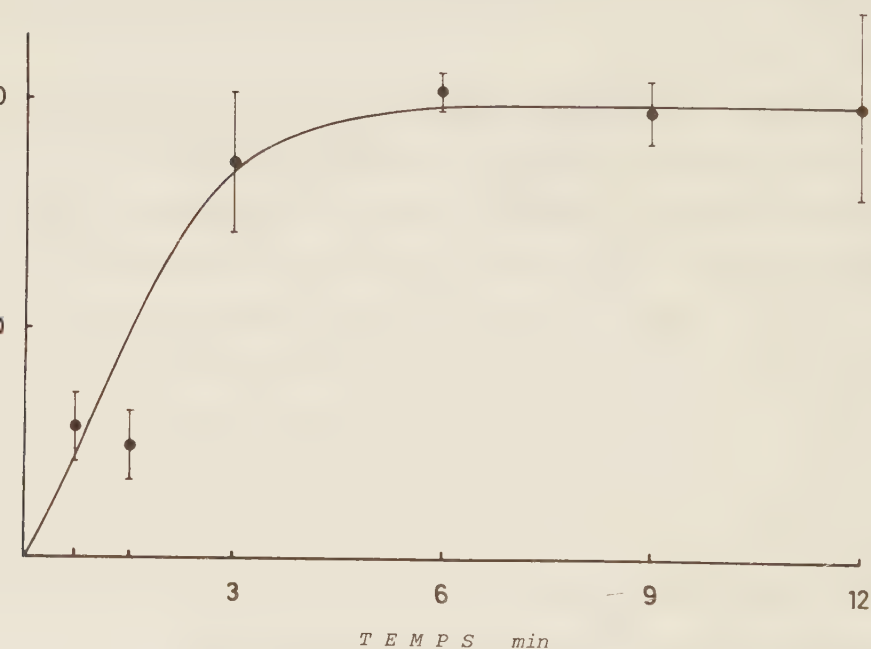


FIGURE 19 : ACCUMULATION D'AMP CYCLIQUE DANS LE GANGLION CERVICAL SUPERIEUR DE VEAU SOUS L'EFFET DU POTASSIUM EN FONCTION DU TEMPS

Les sections de nerfs sont préincubées pendant 30 min. dans du Locke, puis transférées dans du Locke contenant du potassium 100 mM et de la théophylline 10 mM pour les durées indiquées. Les résultats sont exprimés en pourcent des valeurs de contrôle $\pm$ SEM. Le nombre d'expériences pour chaque point varie entre 7 et 62.

la concentration de potassium (figure 20). D'autres dépolarisants ont été testés quant à leur effet sur le contenu en AMP cyclique du ganglion cervical supérieur de veau. La vératridine provoque une augmentation rapide d'AMP cyclique qui atteint après 6 min. un taux ma-

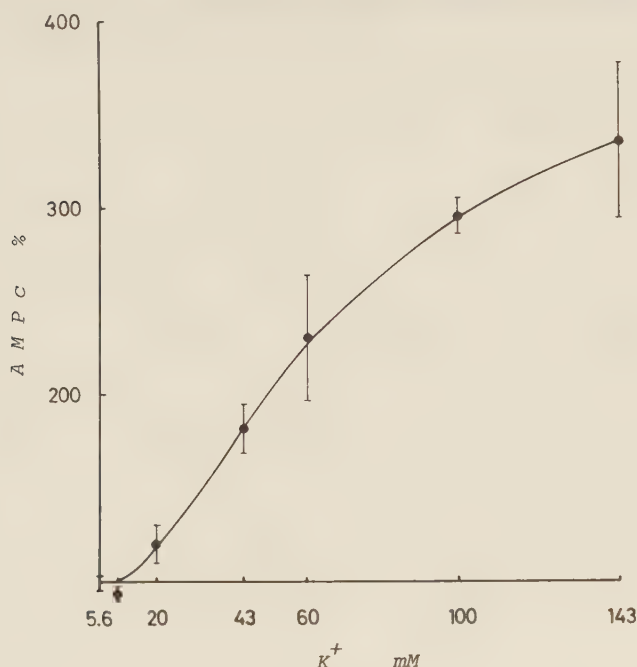


FIGURE 20 : AUGMENTATION DE LA CONCENTRATION D'AMP CYCLIQUE DANS LE GANGLION CERVICAL SUPERIEUR DE VEAU EN FONCTION DE LA CONCENTRATION DE POTASSIUM DANS LE MILIEU

Après préincubation pendant 30 min. dans du Locke, les morceaux de ganglions sont transférés pour une durée de 9 min. dans du Locke contenant les concentrations de potassium indiquées et de la théophylline 10 mM. Les résultats sont exprimés en pourcent des valeurs de contrôle $\pm$ SEM. Le nombre d'expériences pour chaque point varie de 4 à 51.

al d'environ 3,5 fois la concentration basale d'AMP cyclique (figure 21). La concentration pour l'effet demi-maximal de la vératridine est d'environ 120 μM (figure 22). L'ouabaïne, qui bloque la NaKase du ganglion, et dépolarise les membranes nerveuses, provoque l'accumulation d'AMP cyclique (figure 21).

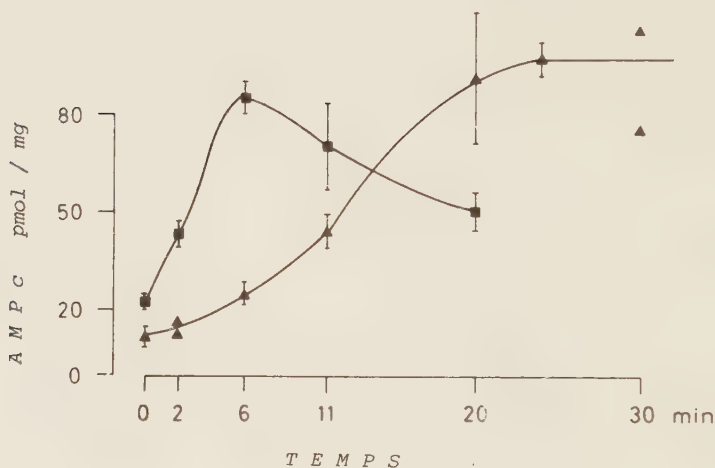


FIGURE 21 : ACCUMULATION D'AMP CYCLIQUE DANS LE GANGLION CERVICAL SUPERIEUR DE VEAU SOUS L'EFFET DE L'OUABAIN 50 μM (▲) OU DE LA VERATRIDINE 250 μM (■) EN FONCTION DU TEMPS

Les morceaux de ganglions sont préincubés pendant 30 min. dans du Locke puis transférés pour une durée de 9 min. dans du Locke contenant de la théophylline 10 mM et l'une des substances indiquées. Les résultats sont exprimés en pmoles d'AMP cyclique par mg. de protéines $\pm$ SEM. Nombre d'expériences: de 3 à 5 pour chaque point.

L'accumulation d'AMP cyclique sous l'effet de dépolarisants n'est pas restreinte au ganglion de veau. Des essais sur les ganglions de chat, de rat et de lapin avec divers dépolarisants ont montré des effets similaires. La concentration d'AMP cyclique dans les ganglions non traités est presque identique pour chaque espèce. Lorsque la théophylline est ajoutée au milieu, l'AMP cyclique augmente légèrement, entre 54 % (lapin) et 77 % (rat). Le remplacement de sodium par du po-

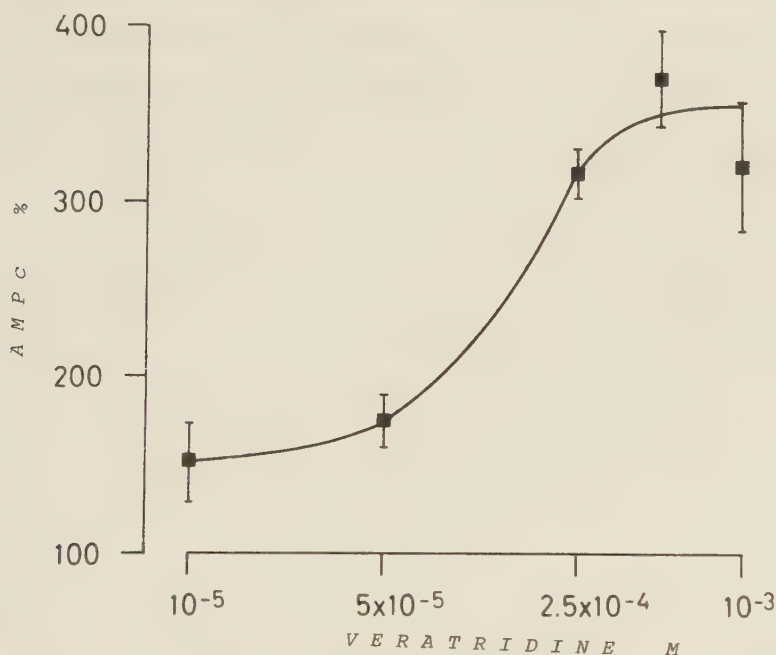


FIGURE 22 : ACCUMULATION D'AMP CYCLIQUE DANS LE GANGLION CERVICAL SUPERIEUR DE VEAU SOUS L'EFFET DE LA VÉRATRIDINE

Les morceaux de ganglions sont préincubés pendant 30 min. dans du Locke puis transférés pour une durée de 9 min. dans du Locke contenant de la vératridine aux concentrations indiquées, et de la théophylline 10 mM. Les résultats sont exprimés en pourcent des valeurs de contrôle $\pm$ SEM. Nombre d'expériences: de 3 à 6.

ssium 100 mM en absence de théophylline provoque une augmentation AMP cyclique de 3 à 4 fois chez le rat et le lapin, mais aucun changement significatif chez le veau. Si la théophylline est ajoutée au lieu, l'effet de la dépolarisation est doublé chez le rat et le pin et il est quadruplé chez le veau. Le ganglion de chat donne une réponse faible à la stimulation par le potassium. L'effet de la véradine est quantitativement semblable à celui du potassium (Tableau XV).

TABLEAU XV : AUGMENTATION DE LA CONCENTRATION D'AMP CYCLIQUE INDUITE PAR LES DEPOLARISANTS DANS LE GANGLION CERVICAL SUPERIEUR DE DIVERSES ESPECES

Les morceaux de ganglion sont préincubés pendant 30 min dans du Locke puis transférés dans du Locke contenant les substances indiquées pour la durée indiquée (deuxième chiffre entre parenthèses). Les résultats sont exprimés en pmoles d'AMP cyclique par mg de protéines $\pm$ SEM. Le nombre d'expériences est indiqué par le premier chiffre entre parenthèses.

TABLEAU XV

	rat	lapin	chat	veau
ke	15,8 $\pm$ 2,5 (3)	19,9 $\pm$ 1,9 (9)	15,2 $\pm$ 5,2 (3)	14,8 $\pm$ 1,3 (17)
ophylline	27,9 $\pm$ 1,4 (3,6)	30,6 $\pm$ 6,3 (3,6)	24,0 $\pm$ 1,1 (3,6)	23,7 $\pm$ 1,0 (62,9)
(10 ⁻¹ M)	58,9 $\pm$ 7,5 (3,6)	68,7 $\pm$ 8,7 (3,6)	-	18,5 $\pm$ 2,6 (5,9)
héophylline (10 ⁻² M)	112,4 $\pm$ 4,5 (3,6)	168,6 $\pm$ 40,1 (3,6)	43,7 $\pm$ 4,7 (3,6)	68,5 $\pm$ 3,1 (37,9)
atridine (5 x 10 ⁻⁴ M)	-	74,8 $\pm$ 8,7 (4,4)	-	24,8 $\pm$ 2,4 (4,9)
héophylline (10 ⁻² M)	165,6 $\pm$ 17,8 (3,6)	252,5 $\pm$ 58,0 (3,4)	38,0 $\pm$ 1,7 (3,6)	76,5 $\pm$ 9,0 (4,9)

Une étude sur le ganglion cervical supérieur de lapin montre que le développement de l'effet de divers dépolarisants dans le temps, vératridine, cévadine, aconitine, est analogue pour le ganglion de lapin et celui de veau (Figure 23).

L'effet des agents dépolarisants sur les membranes peut être atténué ou inhibé par des anesthésiques locaux. Certains, comme la tétracaïne ont un effet stabilisateur général, d'autres diminuent spécifiquement la perméabilité à certains ions, le sodium dans le cas de la tétrodotoxine, le potassium dans celui du tétraéthylam-

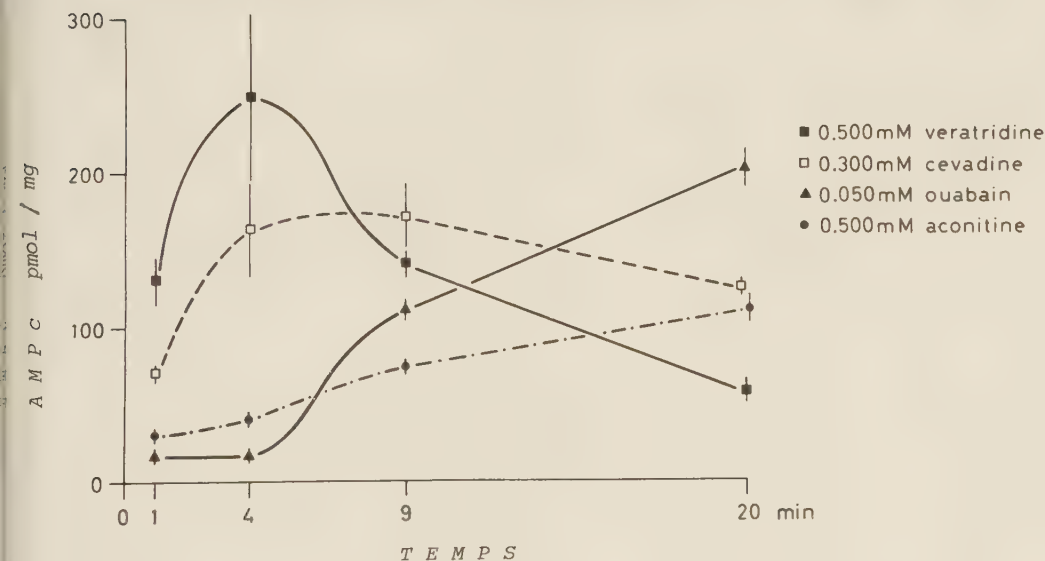


FIGURE 23 : ACCUMULATION D'AMP CYCLIQUE DANS LE GANGLION CERVICAL SUPERIEUR DE LAPIN SOUS L'EFFET DE DIVERS DEPOLARISANTS

Les morceaux de ganglions sont préincubés 30 min. dans du Locke puis transférés pour les durées indiquées dans du Locke contenant de la théophylline 10 mM et l'un des agonistes indiqués. Les résultats sont exprimés en pmoles d'AMP cyclique par mg. de protéines $\pm$ SEM.

mium (NARAHASHI T., 1974). L'accumulation d'AMP cyclique par les polarisants a pu être inhibée par les anesthésiques locaux. La tetracaïne inhibe l'effet de la vératridine dès une concentration $10^{-4}M$, et celui du potassium à plus forte concentration (figure 24). La dépolarisation et l'accumulation d'AMP cyclique par le potassium

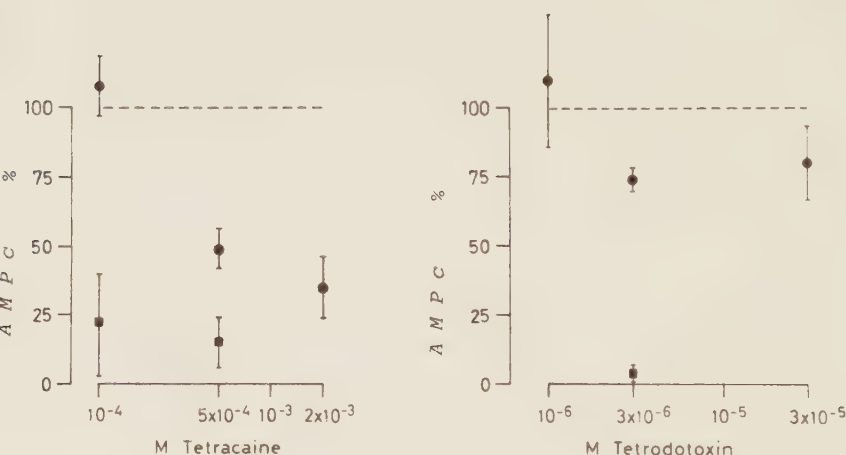


FIGURE 24 : EFFET DE DIVERSES CONCENTRATIONS DE TETRACAINE OU DE TETRODOTOXINE SUR L'ACCUMULATION D'AMP CYCLIQUE INDUITE PAR LE POTASSIUM $10^{-1}M$ (●) OU LA VERATRIDINE $5 \times 10^{-4}M$ (■) DANS LE GANGLION CERVICAL SUPERIEUR DE VEAU

Préincubation: 15 min. dans du Locke et 15 min. en présence de tétacaïne ou de tetrodotoxine. Incubation: 9 min. en présence des substances indiquées et de théophylline 10 mM. Les résultats sont exprimés en pourcent des valeurs stimulées $\pm$ SEM. 100 % signifie une stimulation sans inhibition et 0 % une inhibition totale. Nombre d'expériences pour chaque point : de 3 à 5.

ne sont pas affectés par la tétrodotoxine qui n'agit que sur l'effet de vératridine ce qui s'explique par le fait que tétrodotoxine et vératridine agissent spécifiquement sur les canaux à sodium (figure 24).

Il est bien établi que la libération de transmetteurs par les nerfs des vertébrés sous l'effet d'une stimulation électrique ou chimique est dépendante de la présence de calcium dans le milieu (RUBIN R.P., 1970). Le même phénomène a été observé dans d'autres tissus pour une grande variété de processus de sécrétion. (DOUGLAS W.W., 1968; QUASTEL D.M., 1976)

En absence de calcium dans le milieu, le ganglion cervical supérieur de veau n'accumule pas d'AMP cyclique sous l'effet des dépolarisants (figure 25). Cela suggère que les dépolarisants agissent sur le taux d'AMP cyclique par libération d'une substance active de l'adénylate cyclase. Toutefois on ne peut exclure à priori un effet direct, calcium-dépendant, de la dépolarisation sur l'adénylate cyclase membranaire du ganglion.

Dans le système nerveux central les dépolarisants agissent par libération d'adénosine. Cette substance stimule une adénylate cyclase par l'intermédiaire d'un récepteur spécifique qui peut être inhibé par la théophylline (HUANG M. et al., 1972). Cette explication de l'action des dépolarisants ne peut pas être retenue pour le ganglion de veau puisque d'une part il est insensible à l'adénosine et que d'autre part la théophylline est nécessaire à la mise en évidence de l'effet des dépolarisants. Il y a aussi le glutamate qui peut agir

me intermédiaire entre dépolarisation et accumulation d'AMP cyclique dans le système nerveux central (SHIMIZU H. et YAMAMURA Y., 1977). Dans le ganglion cervical supérieur de veau le glutamate est sans effet sur le taux d'AMP cyclique (tableau XVI).

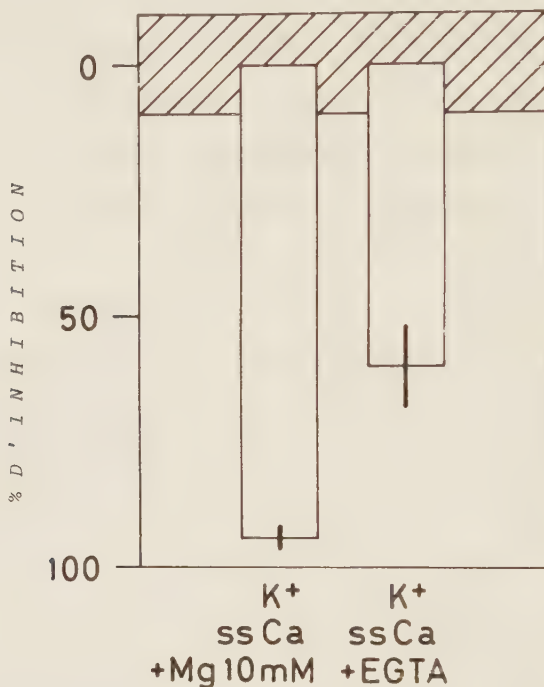


FIGURE 25 : INHIBITION EN ABSENCE DE CALCIUM DE L'ACCUMULATION D'AMP CYCLIQUE INDUITE PAR LE POTASSIUM DANS LE GANGLION CERVICAL SUPERIEUR DE VEAU

Préincubation: 30 min. dans du Locke et 5 min. dans du Locke sans calcium. Incubation: 9 min. dans du Locke sans Ca⁺⁺ contenant de la théophylline 10 mM et du K⁺ 100 mM et soit du Mg⁺⁺ 10 mM (colonne de gauche) soit de l'EGTA 0,2 mM (colonne de droite). En hachuré: les valeurs stimulées de contrôle. Les résultats sont exprimés en pourcent d'inhibition des valeurs stimulées $\pm$ SEM. Nombre d'expériences: 5 et 7.

TABEAU XVI : *EFFET DU GLUTAMATE SUR LE CONTENU EN AMP CYCLIQUE DU
GANGLION CERVICAL SUPERIEUR DE VEAU*

*Les morceaux de ganglions sont préincubés 30 min.
dans du Locke puis transférés pour 9 min. dans du Locke
contenant les substances indiquées. Les résultats sont
exprimés en pmoles d'AMP cyclique par mg. de protéines
± SEM. n = nombre d'expériences.*

<i>Incubation</i>	<i>n</i>	<i>pmol AMPc/mg.prot.</i>
<i>théophylline $10^{-2}M$</i>	<i>7</i>	<i>21,4 ± 1,4</i>
<i>théophylline + glutamate $10^{-4}M$</i>	<i>4</i>	<i>21,2 ± 2,5</i>

Puisque l'adénosine et le glutamate ne jouent pas le rôle d'intermédiaire dans le ganglion, il a été étudié si les dépolarisants agissent dans ce tissu par un mécanisme analogue, mais en libérant d'autres substances. Les inhibiteurs anticholinergiques muscariniques (atropine) et nicotiniques (hexamethonium) n'ont aucun effet sur l'action des dépolarisants qui n'agissent donc pas par libération d'acétylcholine (figure 26). Les antihistaminiques burimamide et mepyramine sont également sans effet (figure 26).

Les catécholamines jouent un rôle d'intermédiaires dans l'accumulation d'AMP cyclique qui résulte d'une stimulation électrique du nerf préganglionnaire. Pour cette raison, il était important d'étudier si les dépolarisants agissent de façon analogue. Des essais ef-

ctués avec de très fortes doses d'antagonistes α - et β -adrénergi-
 es ont mis en évidence une inhibition partielle de l'effet du po-
 ssium (tableau XVII). Mais il peut s'agir d'effets non spécifiques
 r les inhibiteurs α utilisés dans ces expériences ont peu ou pas
 effet sur l'accumulation d'AMP cyclique par la dopamine, la nora-

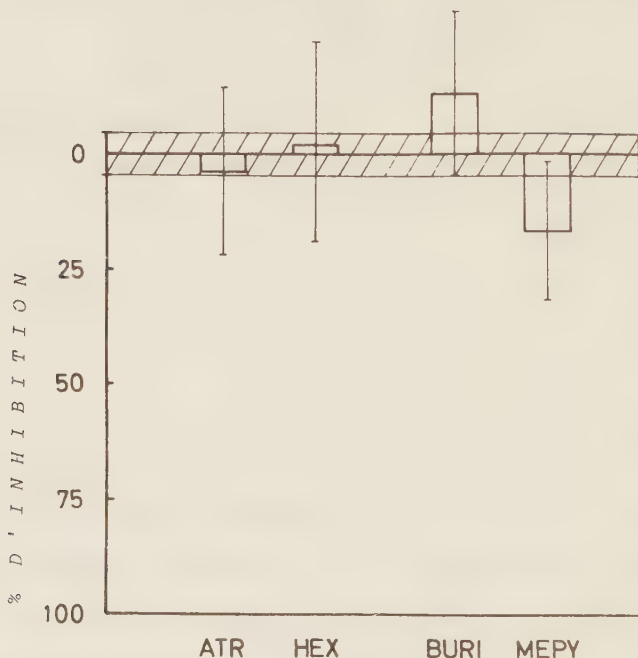


FIGURE 26 : EFFET DES AGENTS ANTICHOLINERGIQUES ET ANTIHISTAMINIQUES
 SUR L'ACCUMULATION D'AMP CYCLIQUE PAR LE POTASSIUM

Préincubation 15 min. dans du Locke puis 15 min.
 dans du Locke contenant l'un des inhibiteurs indiqués.
 Incubation: 9 min. dans du Locke contenant de la théo-
 phylline 10 mM, du potassium 100 mM et les inhibiteurs
 indiqués. Les résultats sont exprimés en pourcent d'in-
 hibition des valeurs stimulées $\pm$ SEM. Nombre d'expérien-
 ces: de 3 à 12. ATR = atropine 25 μ M, HEX = hexamethonium
 500 μ M, BURI = burimamide 100 μ M, MEPY = mepyramine 100 μ M.

drénaline ou l'adrénaline (tableau IV). D'autre part, le propranolol a des propriétés d'anesthésique local dues à une compétition avec le calcium intramembranaire (PORZIG H., 1973). Les deux isomères du propranolol sont anesthésiques locaux, par contre les propriétés β -adrénolytiques de l'isomère l- sont beaucoup plus marquées que celles de

TABLEAU XVII : EFFET DE FORTES CONCENTRATIONS D'AGENTS α ET β -ADRENOLYTIQUES SUR L'ACCUMULATION D'AMP CYCLIQUE DANS LE GANGLION CERVICAL SUPERIEUR DE VEAU PAR LES DEPOLARISANTS

Les morceaux de tissu sont préincubés pendant 30 min. dans du Locke ou pendant 15 min. dans du Locke et 15 min. dans du Locke contenant les inhibiteurs. Ils sont ensuite transférés dans du Locke additionné de théophylline 10 mM et des substances indiquées. Les résultats sont exprimés en pourcent d'inhibition de l'accumulation d'AMP cyclique par le potassium $\pm$ SEM. n = nombre d'expériences.

Incubation	n	% d'inhibition
contrôle	20	100 $\pm$ 7
K ⁺ 100 mM	22	0 $\pm$ 10
K ⁺ + phentolamine 0,1 mM	9	42 $\pm$ 8
K ⁺ + d, l-propranolol 0,1 mM	9	35 $\pm$ 9
K ⁺ + phentolamine + 0,1 propranolol	15	54 $\pm$ 8
K ⁺ + sotalol 0,1 mM	3	15 $\pm$ 5
K ⁺ + sotalol 0,5 mM	3	49 $\pm$ 12
K ⁺ + d-propranolol 0,5 mM	4	76 $\pm$ 8
K ⁺ + l-propranolol 0,5 mM	4	82 $\pm$ 12

isomère d- (HOWE R. et SHANKS R.G., 1966; BARRETT A.M. et CULLUM V.A., 1968; SHINEBOURNE E. et al., 1969). Aux fortes concentrations utilisées dans les expériences présentées au tableau XVII, les deux isomères ont un effet identique sur l'action du potassium; c'est donc leur propriété anesthésique locale qui entre en jeu dans cette inhibition.

Des substances α - et β -adrénoLytiques, la phenoxybenzamine et le propranolol, à des concentrations relativement faibles inhibent efficacement l'accumulation d'AMP cyclique provoquée par des doses optimales de dopamine, noradrénaline, adrénaline et isoprénaline (tableau IV). Ces substances utilisées séparément ou simultanément ne sont pas capables d'inhiber l'effet des dépolarisants (tableau XVIII).

L'étude des implications possibles des récepteurs adrénérgiques dans l'effet des dépolarisants sur le contenu en AMP cyclique du ganglion a été complétée par des expériences faites avec la clonidine. La clonidine a été décrite selon les circonstances comme un activateur adrénérgique ou au contraire comme un agent α -adrénoLytique (FINCH L. et al., 1975; SKOLNICK P.H. et DALY J.W., 1975; ANDEN N.E. et al., 1976; SKOLNICK P.H. et DALY J.W., 1976). Il est établi que la clonidine interfère avec les récepteurs α -adrénérgiques mais les modalités et les conséquences de cette interaction restent peu claires.

Dans le ganglion cervical de veau, la clonidine (50 μ M) n'a aucun effet par elle-même sur le taux d'AMP cyclique. Elle n'a aucun effet non plus sur l'augmentation du taux d'AMP cyclique par l'isoprénaline, la noradrénaline ou l'adénaline. Par contre, elle a une action potentiatrice sur l'effet de la dopamine qui est doublé en présence

de clonidine (tableau XIX).

Le mécanisme d'action de la clonidine, en ce qui concerne ce dernier effet, n'a pas pu être déterminé. Un certain nombre d'hypothèses peuvent être émises:

- Blocage du recaptage de la dopamine. Ce blocage permettrait une accumulation de dopamine dans la fente synaptique (figure 27).

TABLEAU XVIII : *EFFET D'INHIBITEURS ADRENERGIQUES SUR L'ACCUMULATION D'AMP CYCLIQUE INDUITE PAR LE POTASSIUM DANS LE GANGLION CERVICAL SUPERIEUR DE VEAU*

Préincubation: 15 min. dans du Locke puis 15 min. en présence des inhibiteurs respectifs. Incubation: 9 min. dans du Locke contenant de la théophylline 10 mM, du potassium 100 mM et les inhibiteurs indiqués. Les résultats sont exprimés en pmoles d'AMP cyclique par mg. de protéines $\pm$ SEM. n = nombre d'expériences.

<i>Incubation</i>	<i>n</i>	<i>pmol AMPc/mg.prot.</i>
<i>contrôle</i>	9	<i>14,1 $\pm$ 1,0</i>
<i>K⁺ 100 mM</i>	9	<i>39,5 $\pm$ 3,9</i>
<i>K⁺ + phénoxybenzamine 0,05 mM</i>	9	<i>37,4 $\pm$ 2,1</i>
<i>K⁺ + 1-propranolol 0,01 mM</i>	9	<i>43,9 $\pm$ 3,4</i>
<i>K⁺ + phénoxybenzamine 0,05 mM + 1-propranolol 0,01 mM</i>	9	<i>33,7 $\pm$ 2,8</i>

EAU XIX : AMP CYCLIQUE DANS LE GANLGION CERVICAL SUPERIEUR DE
VEAU: EFFET DE LA CLONIDINE SUR LE TAUX DE BASE ET
SUR L'ACCUMULATION PAR DIVERS AGENTS

Les morceaux de ganglions sont préincubés pendant 30 min. dans du Locke puis transférés pour 9 min. dans du Locke contenant les substances indiquées. Les résultats sont exprimés en pourcent du taux de contrôle $\pm$ SEM. n = nombre d'expériences.

Addition	n	pourcent
rôle	14	100 $\pm$ 7
idine 50 μ M	12	116 $\pm$ 4
mine 25 μ M	9	250 $\pm$ 16
mine + clonidine	9	397 $\pm$ 28
adrénaline 50 μ M	3	244 $\pm$ 10
adrénaline + clonidine	3	289 $\pm$ 34
naline 25 μ M	9	206 $\pm$ 13
naline + clonidine	8	248 $\pm$ 19
rénaline 25 μ M	6	217 $\pm$ 12
rénaline + clonidine	6	228 $\pm$ 30
3 mM	3	155 $\pm$ 21
3 mM + clonidine	3	147 $\pm$ 11
00 mM	9	280 $\pm$ 28
00 mM + clonidine	9	293 $\pm$ 32

Cette hypothèse supposerait un blocage préférentiel des récepteurs présynaptiques normalement stimulés par la dopamine et responsables d'une activation de la captation ou d'une diminution de la libération des catécholamines. Une activité préférentielle de la clonidine pour les récepteurs présynaptiques a été observée dans une préparation

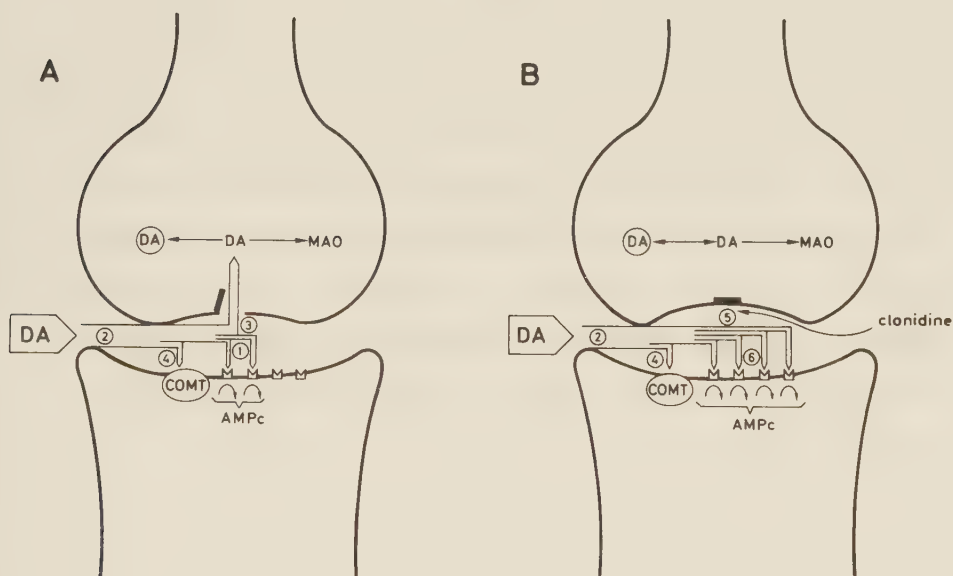


FIGURE 27 : *HYPOTHESE CONCERNANT L'EFFET POTENTIATEUR DE LA CLONIDINE SUR L'ACCUMULATION D'AMP CYCLIQUE INDUITE PAR LA DOPAMINE DANS LE GANGLION CERVICAL SUPERIEUR DE VEAU*

(A) Situation normale; l'activité maximale (1) est limitée par la diffusion de la dopamine (2) sa captation dans les structures présynaptiques (3) et sa métabolisation (4). (B) Blocage de la captation de la dopamine (5); il en résulte une plus forte concentration de dopamine dans la fente synaptique, donc un effet augmenté (6).

l'artère pulmonaire (STARKE K. et al., 1974), mais dans cette préparation, la clonidine a un effet agoniste.

- Coopération positive entre récepteurs sensibles à la clonidine et récepteurs dopaminergiques.

- Interaction de la clonidine avec le métabolisme des catécholamines. La clonidine modifie les effets de certains inhibiteurs du métabolisme des catécholamines; elle réduit l'effet de l' α -méthyl-p-tyrosine sur le contenu en noradrénaline, mais elle ne modifie pas son effet sur le contenu en dopamine; d'autre part elle empêche l'accumulation de la DOPA après inhibition de la DOPA décarboxylase (SIDEN N.E. et al., 1976). Il n'est pas exclu que l'effet de la clonidine sur le métabolisme des catécholamines favorise l'action de la dopamine exogène soit en empêchant sa dégradation, soit d'une façon indirecte. Dans le premier cas, il pourrait s'agir d'un blocage de la dopamine β -hydroxylase, blocage qui potentialise l'effet de la dopamine (tableau VI).

Sans avoir pu éclaircir le mécanisme d'action de la clonidine, il a été montré qu'elle est capable d'exalter spécifiquement l'effet de la dopamine exogène sur l'accumulation d'AMP cyclique. Or la clonidine est sans effet sur l'accumulation d'AMP cyclique par des agents dépolarisants (tableau XIX). Il semble donc peu probable que l'intermédiaire entre la dépolarisation et l'accumulation d'AMP cyclique dans le ganglion cervical supérieur de veau soit la dopamine. L'observation que l'excitation électrique du nerf préganglionnaire du ganglion cervical supérieur de lapin provoque la libération de noradrénaline mais pas de dopamine (NOON J.P. et al., 1976; NOON J.P. et ROTH R.H., 1976)

est en faveur de cette interprétation.

Des expériences avec des substances capables d'épuiser les stocks de catécholamines dans le ganglion cervical supérieur de veau ont montré qu'une forte diminution du contenu en noradrénaline et en dopamine n'empêche pas une accumulation d'AMP cyclique par les dépolarisants. Ces essais ont été effectués avec des substances qui inhibent la recaptation des catécholamines telles que l'amphétamine et la tyramine (ZIANCE R.J. et al., 1972; BACQ Z.M., 1976; HEIKKILA R.E. et al., 1975; SEIDEN L.S. et al., 1975), qui favorisent leur libération, telles que la réserpine et la syroisngopine (ORLANS F.B.H. et al., 1960; MARKS B.H. et SORGEN R.W., 1961) ou qui inhibent leur synthèse telles que l' α -méthyl-p-tyrosine et la iodotyrosine (SPECTOR S. et al., 1965 a, b; SPECTOR S., 1966).

L' α -méthyl-p-tyrosine provoque une diminution du contenu en dopamine et en noradrénaline du ganglion (tableau XX). Or lorsque le ganglion est préincubé en présence d' α -méthyl-p-tyrosine, puis transféré dans un milieu dépolarisant, son taux d'AMP cyclique augmente dans la même mesure que si le ganglion est préincubé dans du Locke (tableau XXI). Cette observation nous place devant l'alternative suivante: soit l'accumulation d'AMP cyclique par des dépolarisants n'est pas due à la libération de noradrénaline ou de dopamine, soit il existe des compartiments dans lesquels les catécholamines sont inatteignables par les substances utilisées. Une telle compartimentation a été observée dans les cultures de tissu ganglionnaire du rat (PHILLIPSON O.T. et MOORE K.E., 1975), et dans le ganglion cervical supérieur de rat (VAN ORDEN L.S. et al., 1970; KOSLOW S.H. et al., 1975). Dans cette dernière étude, il

été montré que l'adrénaline contenue dans les cellules fluorescen-
n'est pas diminuée lors d'un traitement à la réserpine alors que
amine et noradrénaline diminuent fortement. Dans l'oreillette droi-
de cobaye, il existe un compartiment de noradrénaline résistant à
réserpine (VAN ORDEN L.S. et al., 1974). Dans le ganglion coelia-

LEAU XX : *CONTENU DU GANGLION CERVICAL SUPERIEUR DE VEAU EN
CATECHOLAMINES AU REPOS ET APRES DIVERS TRAITEMENTS*

*Les échantillons sont préincubés pendant 30 min.
dans du Locke puis pendant les temps indiqués dans du
Locke contenant les substances indiquées. Ils sont en-
suite congelés et les catécholamines sont dosées par
fluorimétrie. Les résultats sont exprimés en nanogram-
mes de catécholamine par gramme de poids humide, avec
deux valeurs pour chaque donnée, sauf pour la réser-
pine.*

<i>Incubation</i>	<i>temps d'incubation (min.)</i>	<i>dopamine</i>	<i>noradrénaline</i>
<i>ke</i>	<i>30</i>	<i>406 429</i>	<i>1996 1544</i>
<i>hétamine 10 mM</i>	<i>60</i>	<i>1565 1265</i>	<i>1376 2070</i>
<i>amine 10 mM</i>	<i>60</i>	<i>1950 1472</i>	<i>2320 1800</i>
<i>amine 10 mM</i>	<i>180</i>	<i>2327 1707</i>	<i>874 674</i>
<i>amine 10 mM</i>	<i>300</i>	<i>1930 1393</i>	<i>510 395</i>
<i>thyl-p-tyrosine 1 mM</i>	<i>240</i>	<i>150 150</i>	<i>136 364</i>
<i>erpine 0,02 mM</i>	<i>60</i>	<i>550</i>	<i>2880</i>

comésentérique de rat, la réserpine provoque une forte diminution des catécholamines des cellules chromaffines, alors que les petites cellules intensément fluorescentes sont peu ou pas affectées (LEVER J.D. et al., 1975). Ces observations peuvent expliquer pourquoi les expériences en vue d'éliminer les catécholamines du ganglion n'ont pas donné des résultats concluants.

L'accumulation d'AMP cyclique due aux dépolarisants n'a pu être

TABLEAU XXI : *EFFET DE L' α -METHYL-p-TYROSINE SUR L'ACCUMULATION D'AMP CYCLIQUE PAR LES DEPOLARISANTS DANS LE GANGLION CERVICAL SUPERIEUR DE VEAU*

Les incubations et unités sont explicites dans le tableau. α -MPT = α -méthyl-para-tyrosine 1 mM. n = nombre d'expériences.

<i>Prétraitement</i>	<i>traitement</i>	<i>n</i>	<i>pmol AMPc/mg.prot</i>
<i>Locke 60 min.</i>	<i>théophylline 10 mM 9'</i>	<i>3</i>	<i>17,0 $\pm$ 1,0</i>
<i>Locke 240 min.</i>	<i>théophylline 10 mM + K⁺ 100 mM</i>	<i>3</i>	<i>54,4 $\pm$ 4,0</i>
<i>α-MPT 60 min.</i>	<i>théophylline 10 mM + K⁺ 100 mM + α-MTP 1 mM 9'</i>	<i>2</i>	<i>90,2</i>
<i>α-MPT 240 min.</i>	<i>théophylline 10 mM + K⁺ 100 mM + α-MPT</i>	<i>5</i>	<i>76,7 $\pm$ 11,0</i>

ibée que par un prétraitement à l'amphétamine. L'amphétamine agit sur les récepteurs préganglionnaires pour inhiber la recaptation des catécholamines et pour favoriser leur libération (HEIKKILA R.E. et al., 1975). Elle agit également sur les récepteurs postsynaptiques (LITZ P. et de CHAMPLAIN J., 1973) et il est possible que l'amphétamine bloque les récepteurs adrénergiques postsynaptiques dans le ganglion. Pour cette raison les morceaux de ganglion de veau ont été incubés 5 min. dans du Locke après incubation en présence d'amphétamine, puis soumis aux agents dépolarisants ou aux catécholamines. Dans ces conditions, un prétraitement de 30 min. avec de l'amphétamine bloque l'action des dépolarisants mais pas celle des catécholamines (figure 28). Or dans ces conditions, les concentrations de dopamine et de noradrénaline du ganglion ne sont pas diminuées (tableau XX). Il est possible que l'amphétamine prive le ganglion d'un neurotransmetteur qui sert d'intermédiaire entre la dépolarisation et l'accumulation d'AMP cyclique, mais il ne s'agit probablement pas de la dopamine ni de la noradrénaline.

3.5.3 Nerf vague

La dépolarisation du nerf vague de lapin n'a aucun effet sur son contenu en AMP cyclique (tableau XXII). Ainsi l'augmentation de la concentration d'AMP cyclique résultant de la dépolarisation dans le système nerveux semble limitée aux régions synaptiques et n'est pas due à une action directe des dépolarisants sur toute adénylate cyclase membranaire.

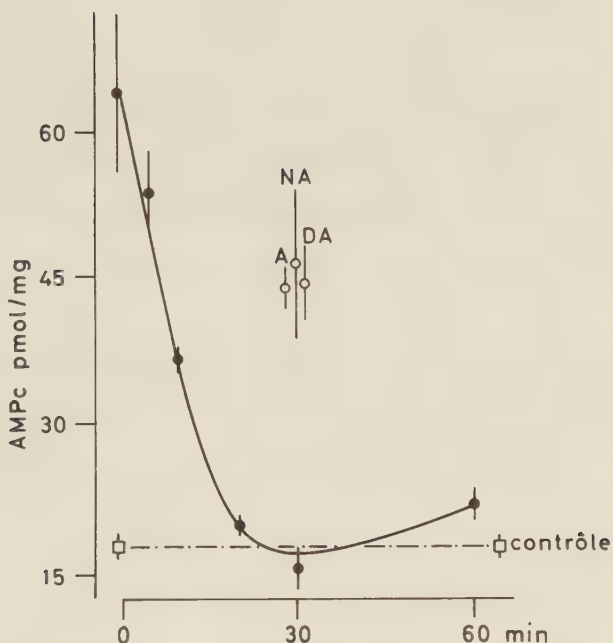


FIGURE 28 : EFFET DE LA PREINCUBATION DANS L'AMPHETAMINE SUR L'ACCUMULATION D'AMP CYCLIQUE INDUITE PAR LE POTASSIUM ET LES CATECHOLAMINES DANS LE GANGLION CERVICAL SUPERIEUR DE VEAU

Les échantillons sont préincubés pendant 30 min. dans du Locke puis dans du Locke contenant de l'amphétamine 10 mM pour les durées variables, indiquées sur l'abscisse. Ensuite, après 5 min. de lavage dans du Locke, les échantillons sont transférés pour 9 min. dans du Locke contenant de la théophylline 10 mM et l'une des substances suivantes: K^+ 100mM (●), adrénaline 0,1 mM (A), noradrénaline 0,1 mM (NA) ou dopamine 0,1 mM (DA). Les résultats sont exprimés en pmoles d'AMP cyclique par mg. de protéines $\pm$ SEM. Nombre d'expériences: de 3 à 14.

TABLEAU XXII : *EFFET DE LA DEPOLARISATION SUR LE CONTENU EN AMP
CYCLIQUE DU NERF VAGUE DE LAPIN*

Les sections de nerf sont préincubées pendant 30 min. dans du Locke puis transférés pour 6 min. dans du Locke contenant les inhibitions indiquées. Les résultats sont exprimés en pourcent des valeurs de contrôle $\pm$ SEM. n = nombre d'expériences.

<i>Incubation</i>	<i>n</i>	<i>AMP cyclique %</i>
<i>100 mM</i>	<i>8</i>	<i>105 $\pm$ 9</i>
<i>100 mM + théophylline 10 mM</i>	<i>6</i>	<i>112 $\pm$ 20</i>
<i>6-Bratridine 0,5 mM</i>	<i>3</i>	<i>116 $\pm$ 3</i>
<i>6-Bratridine 0,5 mM + théophylline 10 mM</i>	<i>6</i>	<i>95 $\pm$ 13</i>

I.e.4. Synthèse des observations sur l'effet des dépolarisants

En résumé, nous avons vu que:

Les agents dépolarisants provoquent dans le ganglion cervical supérieur, mais pas dans le nerf vague, une accumulation d'AMP cyclique. L'effet des dépolarisants est inhibé par les anesthésiques locaux. L'effet des dépolarisants est inhibé en absence de calcium. L'effet des dépolarisants n'est pas inhibé par l'inhibiteur α -adrénergique phénoxybenzamine, par l'inhibiteur β -adrénergique propranolol, par les deux inhibiteurs utilisés simultanément. L'effet des dépolarisants n'est pas inhibé par les agents antihistaminiques ou anticholinergiques.

- f) L'adénosine et le glutamate n'ont pas d'effet sur le ganglion cervical supérieur.
- g) L'effet des dépolarisants, contrairement à celui de la dopamine, n'est pas potentialisé par la clonidine.
- h) La baisse de la concentration de dopamine et de noradrénaline dans le ganglion par l' α -méthyl-p-tyrosine ne diminue pas l'effet des dépolarisants.
- i) La préincubation des échantillons de ganglions par l'amphétamine bloque l'effet des dépolarisants sans diminuer la concentration de noradrénaline et de dopamine.

Nous pouvons déduire de ces observations que les dépolarisants provoquent l'accumulation d'AMP cyclique dans les tissus renfermant des synapses (a) par un mécanisme dépendant du calcium (c). Il est possible qu'ils agissent par la libération d'un neurotransmetteur, mais probablement pas d' α - ou β -agonistes (d), d'histamine (e), d'acétylcholine (e), d'adénosine ou de glutamate (f). Mais il se peut aussi qu'ils agissent par un tout autre mécanisme calcium-dépendant.

III.f. Fluorure

III.f.1. Introduction

L'ion fluorure est un activateur de l'adénylate cyclase dans les homogénats de nombreux tissus tels que glande parotide (SCHRAMM M. et NAIM E., 1970) cortex surrénal (MARCUS R. et AURBACH G.D., 1971) muscle cardiaque (DRUMMOND G.I. et LOVERNE D., 1970), glande pinéale

ELISS B., 1969), foie (RALL T.W. et SUTHERLAND E.W., 1958), tissu adipeux (MANGANIELLO V.G. et VAUGHAN M., 1976), cerveau (JOHNSON R.A. et SUTHERLAND E.W., 1972). Les concentrations généralement utilisées sont d'environ 10 mM (KORNEGAY D. et al., 1973). Dans le tissu nerveux, comme dans la plupart des autres tissus, le fluor n'a été reconnu actif que dans les homogénats (SCHORDERET M., 1974).

I.f.2. Ganglion cervical supérieur

A condition d'utiliser de fortes concentrations de fluorure de sodium, en présence de théophylline, il a été possible de provoquer l'accumulation d'AMP cyclique dans des morceaux de ganglion cervical supérieur de veau (tableau XXIII). Il est possible que l'insuccès rencontré par divers auteurs dans leurs essais de stimulation de l'adénylate cyclase par l'ion fluorure dans des tissus non homogéné-

TABLEAU XXIII : *EFFET DU FLUORE SUR LE TAUX D'AMP CYCLIQUE DANS LE GANGLION CERVICAL SUPERIEUR DE VEAU*

Les échantillons sont préincubés dans du Locke pendant une durée de 30 min. puis transférés pour 9 min. dans du Locke contenant les substances indiquées. Les résultats sont exprimés en pmoles d'AMP cyclique par mg. de protéines $\pm$ SEM. n = nombre d'expériences.

Addition	n	pmol/mg.prot.
théophylline 10 mM	3	16,0 $\pm$ 0,9
théophylline + fluorure 50 mM	3	37,6 $\pm$ 2,9

isés soit dû à l'utilisation de concentrations insuffisantes. Il serait intéressant de répéter les expériences sur des cellules entières de divers tissus avec des concentrations de fluorure du même ordre de grandeur que celles qui ont été utilisées dans ce travail.

III.f.3. Nerf vague

Le fluorure de sodium provoque également une accumulation d'AMP cyclique dans le nerf vague de lapin où le taux d'AMP cyclique atteint 250 % des valeurs de contrôle; la concentration de fluorure pour un effet demi-maximal (K_M) est d'environ 18 mM. La possibilité que l'effet soit dû au ion sodium en excès ou à des phénomènes osmotiques a été écartées par des contrôles avec une solution contenant une forte concentration de chlorure de sodium (figure 29). Lorsque le calcium et le magnésium sont omis de la solution d'incubation, ni le taux de base de l'AMP cyclique ni son augmentation sous l'effet du fluorure ne changent par rapport aux résultats obtenus dans du Locke normal (tableau XXIV). Cette observation indique que le fluor n'agit pas sur le taux d'AMP cyclique par complexation du calcium et du magnésium.

La théophylline est capable de doubler l'effet du fluorure sur le taux d'AMP cyclique du nerf vague de lapin (figure 30). Or elle n'a pas d'effet sur le taux d'AMP cyclique du nerf au repos ni sur l'accumulation d'AMP cyclique par les agonistes β (tableau XI). D'autre part elle inhibe l'effet de l'adénosine (tableau XII).

Lorsque le nerf vague est incubé en présence de fluorure 100 mM et de théophylline 10 mM et qu'il est ensuite transféré dans du Locke contenant de la théophylline, le taux élevé d'AMP cyclique reste sta-

e pendant au moins 20 minutes. Par contre si le nerf préincubé en présence de fluorure 100 mM et de théophylline 10 mM est transféré dans du Locke sans théophylline, le taux d'AMP cyclique décroît et atteint une valeur identique au taux d'AMP cyclique obtenu par stimulation avec du fluorure en absence de théophylline (figure 30). La

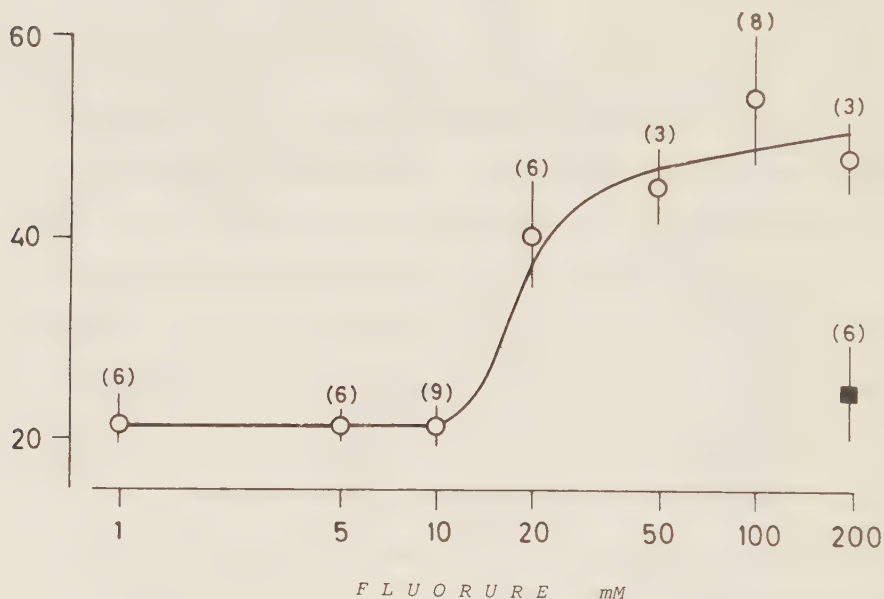


FIGURE 29 : AUGMENTATION DE LA CONCENTRATION D'AMP CYCLIQUE DANS LE NERF VAGUE DE LAPIN SOUS L'EFFET DU FLUORURE

Les sections de nerf sont préincubées pendant 30 min. dans du Locke puis transférées pour 6 min. dans du Locke contenant du NaF (○) ou du NaCl (■) aux concentrations indiquées. Les résultats sont exprimés en pmoles d'AMP cyclique par mg. de protéines $\pm$ SEM. Le nombre d'expériences figure entre parenthèses.

stabilité du taux d'AMP cyclique pendant les 6 premières minutes peut s'expliquer par la présence résiduelle de théophylline dans l'espace interstitiel.

Ces observations suggèrent que dans le nerf vague le fluorure provoque l'accumulation d'AMP cyclique dans deux types de compartiments. Dans l'un la phosphodiesterase est inactive, ou absente, comme dans le compartiment où le taux d'AMP cyclique est augmenté par les agonistes β -adrénergiques ou par l'adénosine (figure 14 et 16). Dans l'autre type de compartiment la phosphodiesterase est si active que

TABLEAU XXIV : *ACCUMULATION D'AMP CYCLIQUE DANS LE NERF VAGUE DE LAPIN SOUS L'EFFET DU FLUORURE EN ABSENCE DE MAGNESIUM ET DE CALCIUM*

Les sections de nerf sont préincubées pendant 30 min. dans du Locke puis incubées pendant 6 min. dans du Locke sans magnésium ni calcium en présence d'EGTA 2 mM et de fluorure aux concentrations indiquées. Les résultats sont exprimés en pmoles d'AMP cyclique par mg. de protéines $\pm$ SEM. n = nombre d'expériences.

Incubation	mM	n	pmol AMPc/mg.prot.
Locke	0	9	22,6 $\pm$ 4,2
Locke sans Ca ⁺⁺ ni Mg ⁺⁺ $\pm$ EGTA 2 mM	0	11	20,8 $\pm$ 4,1
	10	5	24,1 $\pm$ 2,0
	50	6	56,3 $\pm$ 8,2
	100	3	62,1 $\pm$ 8,6
	200	3	44,3 $\pm$ 12,3

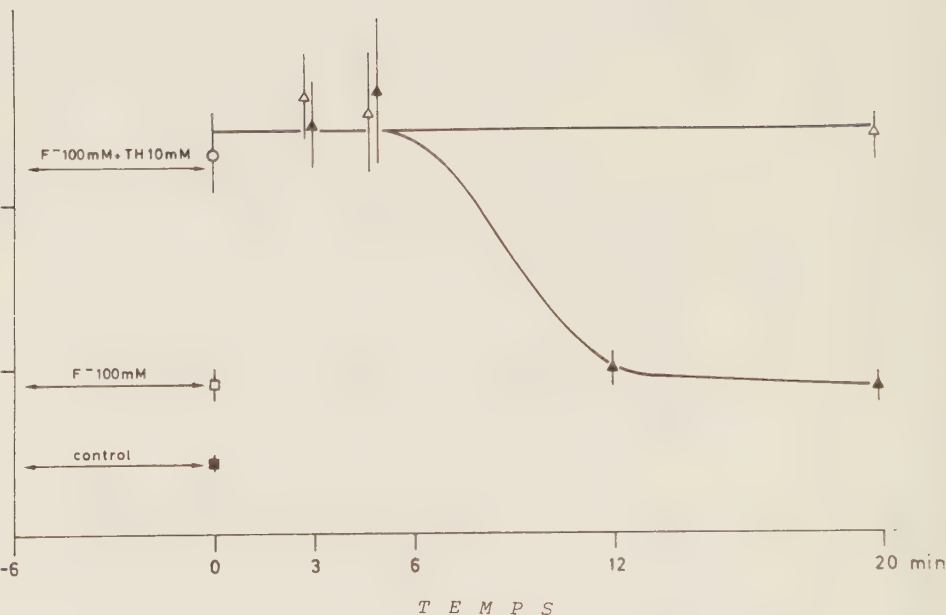


FIGURE 30 : EFFET DE LA THEOPHYLLINE SUR L'ACCUMULATION D'AMP CYCLIQUE INDUITE PAR LE FLUORURE DANS LE NERF VAGUE DE LAPIN

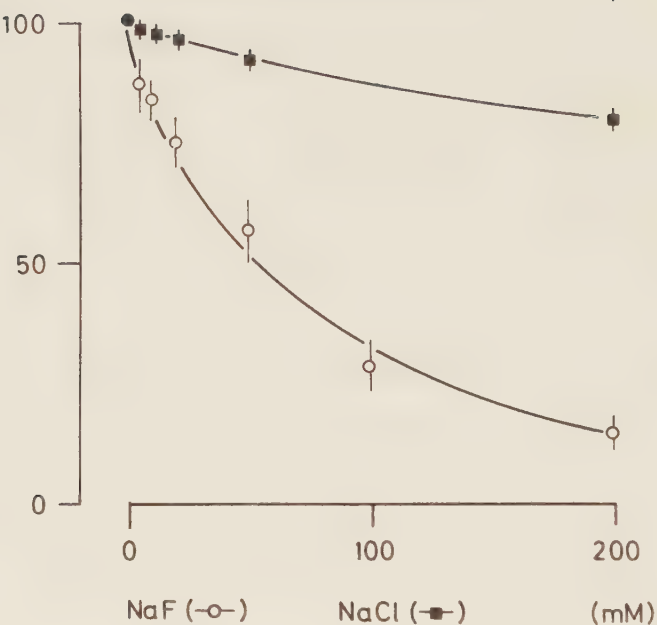
Après préincubation pendant 30 min. dans du Locke, les sections de nerf sont incubées pendant 6 min. dans du Locke (■), dans du Locke contenant du fluorure 100 mM (□) ou dans du Locke contenant de la théophylline 10 mM et le fluorure 100 mM (○). Ces dernières sont ensuite transférées pour les durées indiquées soit dans du Locke contenant de la théophylline (▲), soit dans du Locke seul (▲). Les résultats sont exprimés en pmoles d'AMP cyclique par mg. de protéines $\pm$ SEM. Nombre d'expériences: de 3 à 5.

la théophylline est nécessaire à la mise en évidence d'une accumulation d'AMP cyclique comme c'est le cas pour l'accumulation d'AMP cyclique dans le ganglion cervical supérieur (figure 10). Si cette hypothèse est correcte, il doit exister dans le nerf vague un compartiment d'adénylate cyclase activable par le fluorure et probablement par un agoniste spécifique encore indéterminé.

A côté de son effet stimulant sur l'adénylate cyclase le fluorure a des effets activateurs ou inhibiteurs sur de nombreuses enzymes ; il est en particulier un inhibiteur d'ATPase (E.C. 3.6.1.3) (WISEMAN A., 1970).

Certains auteurs ont émis l'hypothèse que l'accumulation d'AMP cyclique par le fluorure serait la conséquence d'une augmentation du taux d'ATP due au blocage de l'ATPase. Cet ATP supplémentaire, non consommé par l'ATPase, constituerait un substrat plus abondant pour l'adénylate cyclase et conduirait à une synthèse augmentée d'AMP cyclique (MORIWAKIK K. et FOX P.P., 1969).

L'effet inhibiteur du fluorure sur l'ATPase a été confirmé dans les homogénats de nerf vague de lapin. L'inhibition est de 85 % à une concentration de fluorure égale à 200 mM. L'éventualité d'un effet du ion sodium ou d'un effet osmotique a été écartée par des tests avec du chlorure de sodium (figure 31). Mais le blocage de l'ATPase par le fluorure ne conduit à aucune augmentation du taux d'ATP (tableau XXV). A des concentrations de fluorure élevées, le taux d'ATP a même tendance à diminuer phénomène qui s'explique probablement par le blocage de la



URE 31 : INHIBITION DE L'ACTIVITE DE L'ATPase DU NERF VAGUE DE LAPIN PAR LE FLUORURE

Les nerfs homogénéisés sont incubés en présence des différentes concentrations de fluorure ou de chlorure de sodium pendant 60 min. Les résultats sont exprimés en pourcent de l'activité maximale de l'ATPase $\pm$ SEM.

TABLEAU XXV : CONCENTRATION D'ATP DANS LE NERF VAGUE DE LAPIN APRES
INCUBATION EN PRESENCE DE FLUORURE

Les sections de nerf sont préincubées pendant 30 min. dans du Locke puis transférées dans du Locke contenant les concentrations indiquées de fluorure pour une durée de 6 min. Les résultats sont exprimés en pmoles d'ATP par mg. de poids humide $\pm$ SEM. n = nombre d'expériences.

Incubation	n	ATP μ mol/mg. poids humide
contrôle	4	$2,1 \pm 0,2$
F - 5 mM	2	2,0 (1,8 ; 2,2)
F - 10 mM	2	2,3 (2,1 ; 2,5)
F - 20 mM	2	1,7 (1,6 ; 1,7)
F - 50 mM	4	$1,6 \pm 0,1$
F - 100 mM	4	$1,5 \pm 0,1$
F - 200 mM	4	$1,0 \pm 0,1$

colyse par le fluorure. D'autre part, le blocage de l'ATPase par l'addition de fluorure dans un milieu sans calcium ni magnésium (tableau XXVI) ne provoque aucune augmentation d'AMP cyclique dans le nerf vague (tableau XXIV). Enfin, alors que la théophylline bloque l'effet de l'ATP (tableau XIV) elle potentialise celui du fluorure (figure 30). Il n'est donc en aucune manière le blocage de l'ATPase par le fluorure qui conduit à une augmentation d'AMP cyclique dans le nerf, mais cette augmentation est certainement due à un effet direct du fluorure sur l'adénylate cyclase.

D'un autre point de vue, il est possible de supposer que le blocage de l'ATPase par le fluorure est le résultat d'une accumulation d'AMP cyclique. En effet, dans la membrane plasmique du foie, l'activité de l'ATPase est réduite par l'adrénaline, le glucagon, la théophylline, la caféine, l'AMP cyclique et d'autres nucléotides cycliques (TRIA E. et al., 1974). Toutefois dans le tissu nerveux un tel phénomène n'a pas pu être observé (WOODS W.F. et BERMAN E.M., 1976). Dans le nerf vague de lapin, aucune influence de la théophylline, du monobutryl AMP cyclique et de l'AMP cyclique n'a été décelée sur l'activité ATPasique (tableau XXVII). Il est ainsi établi que l'action du fluorure sur l'ATPase du nerf vague et son action sur le taux d'AMP cyclique sont indépendantes.

TABLEAU XXVI : *INHIBITION DE L'ATPase DANS LE NERF VAGUE DE LAPIN
EN ABSENCE DE CALCIUM ET DE MAGNESIUM*

Les nerfs homogénéisés sont incubés en présence ou en absence de calcium et de magnésium pendant 60 min. Les résultats sont exprimés en pourcent des valeurs de contrôle $\pm$ SEM. n = nombre d'expériences.

Incubation	n	activité de l'ATPase %
contrôle *	16	100 $\pm$ 3
sans Mg ⁺⁺ ni Ca ⁺⁺	3	6 $\pm$ 1

* valeur absolue du contrôle: 1,19 $\pm$ 0,04 μ mol Pi/mg . h

TABLEAU XXVII : *EFFET DE L'AMP CYCLIQUE SUR L'ACTIVITE DE L'ATPase
DANS LE NERF VAGUE DE LAPIN*

Les nerfs homogénéisés sont incubés en présence des substances indiquées pendant 60 min. Les résultats sont exprimés en pourcent de l'activité maximale de l'ATPase $\pm$ SEM. n = nombre d'expériences.

Incubation	n	activité de l'ATPase %
contrôle	3	100 $\pm$ 3
AMPc 100 μ M	3	111 $\pm$ 4
AMPc 100 μ M + théophylline 10 mM	3	104 $\pm$ 4
monobutryl AMPc 100 μ M	3	107 $\pm$ 2

IV. CONCLUSIONS

a. Synthèse des résultats

Les travaux de cette étude ont porté sur différentes voies d'accumulation d'AMP cyclique dans le système nerveux périphérique, tant dans un tissu riche en synapses, le ganglion cervical supérieur, que dans un tissu constitué d'axones, le nerf vague. La synthèse des résultats obtenus, résumés au tableau XXVIII, indique que le système nerveux périphérique recèle presque toutes les possibilités d'accumulation d'AMP cyclique connues dans le cerveau (AGRANOFF B.W., 1975). Cette situation rend les objectifs définis dans l'introduction de ce travail réalisables puisque la morphologie moins complexe des tissus nerveux périphériques devrait permettre une étude plus aisée des rôles de l'AMP cyclique que ce n'est le cas dans le cerveau.

TABLEAU XXVIII : POSSIBILITES D'ACCUMULER L'AMP CYCLIQUE DANS LE SYSTEME NERVEUX PERIPHERIQUE ET INHIBITEURS

(page suivante) Les expériences avec le ganglion cervical supérieur de veau sont faites en présence d'un inhibiteur de phosphodiesterase. AGONISTES : 0 = inefficace, + = efficace (moins de 100 % d'augmentation), ++ = très efficace (plus de 100 % d'augmentation). ANTAGONISTES : 0 = inefficace, - = efficace (moins de 100 % d'inhibition), -- = très efficace (100 % d'inhibition).

AGONISTE	ANTAGONISTE	GANGLION CERVICAL SUPERIEUR DE VEAU	NERF VAGUE DE LAPIN
stimulation électrique			0
dépolarisants		++	0
	phénoxybenzamine	-	
	l-propranolol	-	
carbachol		++	
dopamine		++	0
	phénoxybenzamine	--	
	halopéridol	-	
	pimozide	0	
	phentolamine	-	
	l-propranolol	0	
phenyléphrine		0	0
clonidine		0	0
noradrénaline		++	
	phénoxybenzamine	--	
	pimozide	0	
	d,l-propranolol	0	
	sotalol	0	
adrénaline		++	++
	phénoxybenzamine	--	
	phentolamine	-	0
	halopéridol	0	
	pimozide	0	
	l-propranolol	--	--
	sotalol	-	-
isoprénaline		++	++
	phénoxybenzamine	0	
	l-propranolol	--	--
	sotalol	-	-
adénosine		0	++
	théophylline		--
ATP			++
	théophylline		--
glutamate		0	
fluorure		++	++
sérotonine		+	
histamine		+	

.b. Fonctions de l'AMP cyclique dans le système nerveux

.b.1. Introduction

Des études récentes ont montré que dans le système nerveux, l'AMP cyclique intervient dans l'excitabilité des nerfs (STONE T.W. et YLOR D.A., 1977), la transmission synaptique (GREENGARD P., 1976), la glycogénolyse (WILKENING D. et MAKMAN M.H., 1976) et la lipolyse (EISS B. et STILLER R.L., 1974). Dans d'autres tissus, de l'AMP cyclique intervient dans le transport d'acides aminés (KINZIE J.L. et al., 1976), la stéroïdogénèse (WOLFF J. et COOK G.H., 1977; RUBIN R.P. et al., 1977), les sécrétions d'acide (JACOBSON E.D. et THOMPSON W.J., 1976), le cycle cellulaire (FRIEDMAN D.L. et al., 1976) et la production d'anticorps (ITO M. et al., 1977).

Une hypothèse au sujet des divers rôles de l'AMP cyclique dans le système nerveux périphérique peut être élaborée sur la base des données de ce travail et d'une revue, brièvement exposée ci-dessous, des fonctions connues de l'AMP cyclique dans le système nerveux.

.b.2. Electrophysiologie

En plus des phénomènes décrits dans le ganglion cervical supérieur pour la formation du potentiel postsynaptique inhibiteur lent (GREENGARD P., 1976), il a été montré dans le système nerveux central que l'AMP cyclique formé au niveau des synapses sous l'effet des catécholamines a une action inhibitrice sur les cellules postsynaptiques (BLOOM F.E., 1975). C'est le cas des cellules de Pur-

kinje qui, dans le cervelet, reçoivent une innervation noradrénér-
gique. La noradrénaline libérée par les terminaisons présynaptiques
provoquent une élévation du taux d'AMP cyclique dans les cellules
de Purkinje et une diminution de l'amplitude et de la fréquence des
décharges spontanées (SIGGINS G.R., et al., 1971). Ces effets sont
bloqués par les inhibiteurs β -adrénergiques et accentués par les
inhibiteurs de la phosphodiesterase.

D'autres régions du cerveau montrent le même type de réponse.
Mais il y a aussi des voies inhibitrices qui sont dopaminergiques,
notamment dans le noyau caudé où l'effet de la dopamine est bloqué
par des antagonistes dopaminergiques, mais insensible aux antagonis-
tes β -adrénergiques (BLOOM F.E., 1975). Les cellules cervicales de
Purkinje sont aussi inhibées par l'adénosine, dans une mesure plus
importante si un inhibiteur de phosphodiesterase, la papavérine, est
présent (BLOOM F.E., 1975).

Un autre effet inhibiteur de l'AMP cyclique a été décrit dans
le nerf sciatique de la grenouille où il a été montré qu'une incu-
bation du nerf en présence d'AMP cyclique pendant 30 min. réduit
de moitié l'amplitude du potentiel d'action (VANDE BERG J.S., 1974).
Mais des expériences analogues faites avec des nucléotides cycliques
et des activateurs de leur synthèse sur le même tissu (HORN J.P et
McAFEE D.A., 1976) et sur le nerf vague de lapin (ROCH PH. et

AMIN A., 1977) sont en contradiction avec ce résultat.

Une dépression de la transmission nerveuse par l'intermédiaire de l'AMP cyclique semble donc avoir lieu au niveau synaptique et faire appel à des processus métaboliques rapides puisque d'une part l'effet est rapide et que d'autre part l'activité de la phosphodiestérase y est importante. Ce mécanisme peut faire intervenir, selon les régions du système nerveux central, des récepteurs dopaminergiques, noradrénergiques ou peut-être aussi adénosinergiques.

b.3. Métabolisme des neurotransmetteurs

L'activité électrique dans les axones a pour conséquence l'activation de la synthèse des neurotransmetteurs dans les terminaisons nerveuses. Dans le système nerveux central l'activité électrique provoque une activation cinétique de la tyrosine hydroxylase alors que dans le système nerveux périphérique elle provoque une augmentation de la quantité de l'enzyme (NATHANSON J.A., 1977). Diverses observations contradictoires suggèrent que l'activation de la tyrosine hydroxylase est dans certains cas indépendante de l'AMP cyclique (HOENEN H., 1974; OTTEN U., et al., 1974), et que dans d'autres cas elle requiert une augmentation d'AMP cyclique par l'intermédiaire de récepteurs β -adrénergiques (HANBAUER I. et al., 1975; HARRIS J.E. et al., 1975).

L'AMP cyclique semble également responsable de l'activation de la dopamine β -hydroxylase dans le ganglion cervical supérieur

(NATHANSON J.A., 1977). Il semble aussi jouer un rôle dans la libération des neurotransmetteurs, mais cette hypothèse n'est pas définitivement confirmée (NATHANSON J.A., 1977).

IV.b.4. Régulation de la croissance des nerfs

Dans des cultures de neuroblastomes, l'AMP cyclique induit la formation de prolongements neuronaux (neurites) en provoquant un assemblage de neurotubules. L'induction de ces neurites par l'AMP cyclique est différente de celle provoquée par le facteur de croissance (NGF) (NATHANSON J.A., 1977).

L'action de l'AMP cyclique par l'intermédiaire de neurotubules pourrait être aussi à la base de certains processus de libération de neurotransmetteurs. Il a été montré qu'une protéine kinase dépendante de l'AMP cyclique est capable de phosphoryler la MAP2 (microtubule associated protein), une protéine composante des neurotubules (NATHANSON J.A., 1977).

IV.b.5. Métabolisme des sucres et des lipides

L'AMP cyclique est capable d'activer la phosphorylase b kinase dans les tissus nerveux (DRUMMOND G.I. et BELLWARD G., 1970). L'adrénaline, l'isoprénaline et l'histamine augmentent la concentration d'AMP cyclique dans le cerveau de rat et y provoquent une baisse du

ux de glycogène. Cet effet est inhibé par les substances antihistaminiques et β -adrénolytiques. Par contre la dopamine, qui provoque elle aussi une augmentation d'AMP cyclique dans ce tissu, n'a pas d'influence sur le taux de glycogène (WIKENING D. et MAKMAN M.H., 1976; MRSULJA B.B., 1972). Bien qu'on ne sache pas exactement dans quelle région du cerveau l'activation de la phosphorylase par l'AMP cyclique se fait, il est certain qu'elle a lieu dans les cellules gliales (NATHANSON J.A., 1977).

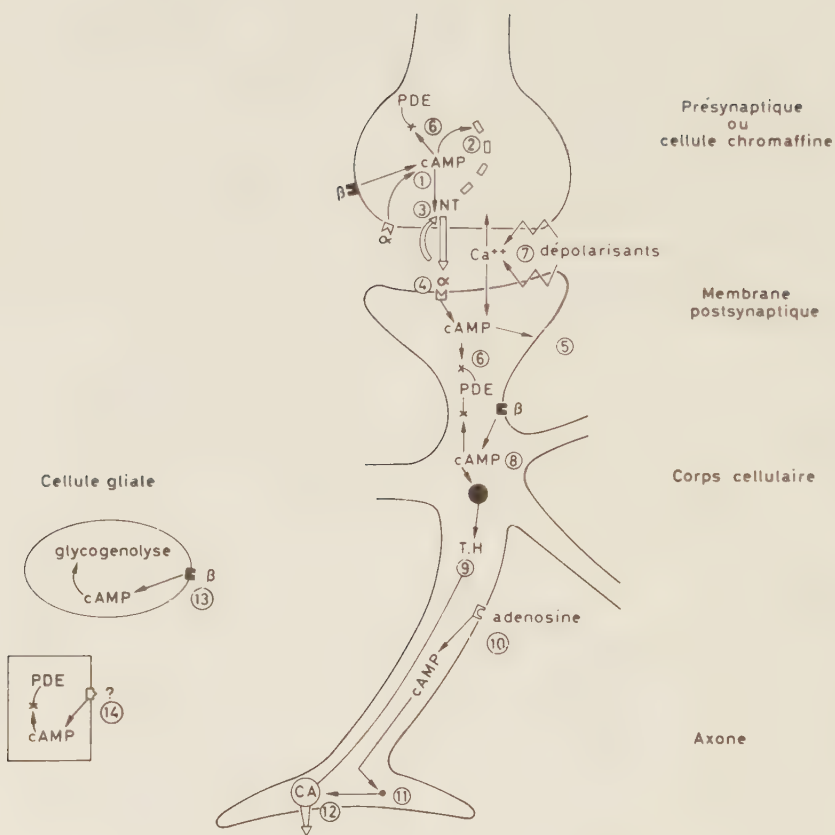
2.c. Schéma hypothétique

Les différents rôles connus de l'AMP cyclique dans le métabolisme du système nerveux confirment la présence universelle de ce second messager. La spécificité de l'action de l'AMP cyclique ne peut s'accomplir lors être réalisée qu'à travers une compartimentation des adénylates cyclases. Dans le tissu nerveux, une accumulation d'AMP cyclique peut avoir lieu dans des axones présynaptiques, dans des dendrites, dans des corps cellulaires, dans des glia. Les récepteurs de la phosphodiesterase, dont les caractéristiques varient d'un compartiment à l'autre, peuvent opérer une discrimination entre ces compartiments. Par exemple, une phosphodiesterase active au niveau de la synapse peut limiter la diffusion de l'AMP cyclique formé en cet endroit, alors qu'ailleurs, dans un axone, l'absence de phosphodiesterase permet à l'AMP cyclique de développer son action dans le temps et de migrer le long de l'axone. L'ensemble des possibilités pharmacologiques d'augmenter l'AMP cyclique, l'ensemble des fonctions

présümées de l'AMP cyclique et l'ensemble des compartiments où ces fonctions peuvent s'exercer donnent un nombre important de combinaisons possibles (tableau XXIX). Bien que les rôles de l'AMP cyclique dans le système nerveux périphérique, soient mal connus, il est possible d'en dresser un schéma hypothétique sur la base des résultats de ce travail et des considérations métaboliques exposées ci-dessus (figure 32). C'est un effort de synthèse qui devrait permettre une recherche systématique en vue d'en contrôler les éléments.

TABLEAU XXIX : INVENTAIRE DES AGONISTES DIRECTS, COMPARTIMENTS ET FONCTIONS POSSIBLES DE L'ACCUMULATION D'AMP CYCLIQUE DANS LE SYSTEME NERVEUX PERIPHERIQUE.

<i>Agonistes</i>	<i>compartiments</i>	<i>fonctions</i>
<i>dépolarisation</i>	<i>corps cellulaire</i>	<i>hyperpolarisation</i>
<i>dopamine</i>	<i>axone</i>	<i>libération des neurotransmetteurs</i>
<i>noradrénaline</i>	<i>membrane présynaptique</i>	<i>métabolisme des neurotransmetteurs</i>
<i>adrénaline</i>	<i>cellule chromaffine</i>	<i>croissance des nerfs</i>
<i>isoprotérénol</i>	<i>membrane postsynaptique</i>	<i>glycogénolyse</i>
<i>adénosine, ATP</i>	<i>glia</i>	<i>transports</i>
<i>fluorure</i>	<i>capillaires</i>	



URE 32 : SCHEMA HYPOTHETIQUE DES FONCTIONS DE L'AMP CYCLIQUE
DANS LE SYSTEME NERVEUX PERIPHERIQUE

Ces propositions ne sont que partiellement étayées et doivent être considérées comme un effort d'imagination pour guider les recherches.

Dans les structures présynaptiques, l'AMP cyclique

formé par l'intermédiaire de récepteurs α - et β -adrénergiques (1) influence la biosynthèse des neurotransmetteurs (NT) (2) (NATHANSON J.A., 1977) et leur recaptation (3) (LANGER S.Z., 1974). Le neurotransmetteur libéré active un récepteur postsynaptique α -adrénergique (4) et provoque une augmentation du taux d'AMP cyclique dans le nerf postsynaptique. Cet AMP cyclique conduit à des modifications membranaires pour créer le potentiel postsynaptique inhibiteur lent (5) (GREENGARD P. et KEBABIAN J.W., 1974). L'AMP cyclique formé tant au niveau présynaptique qu'au niveau postsynaptique est rapidement détruit par la phosphodiesterase (PDE) (6) (ROCH PH. et KALIX P., 1975 a). Les agents dépolarisants exercent leur action en présence de calcium pour libérer le neurotransmetteur ou agir directement sur la membrane postsynaptique et ses récepteurs (7) (ROCH PH. et KALIX P., 1975 b, c). Le corps cellulaire contient des récepteurs β dont l'activation conduit à la formation d'AMP cyclique qui exerce son action dans le noyau pour aboutir à une synthèse accrue de tyrosine hydroxylase (TH) (8) (NATHANSON J.A., 1977). Cet AMP cyclique peut être également détruit par la phosphodiesterase postsynaptique (6) (ROCH PH. et KALIX P., 1975 a). La tyrosine hydroxylase migre le long des axones pour activer la synthèse des catécholamines présentes dans les synapses postganglionnaires (9) (NATHANSON J.A., 1977). Le long des axones se trouvent des récepteurs à adénosine dont l'activation provoque une augmentation d'AMP cyclique (10) (ROCH PH. et SALAMIN A., 1976). Cet AMP cyclique intervient au niveau de la libération des neurotransmetteurs (12), notamment par la polymérisation des neurotubules (11) (NATHANSON J.A., 1977). Les cellules gliales possèdent des récepteurs β -adrénergiques dont l'activation de la glycogénolyse (13) (NATHANSON J.A., 1977). Enfin l'AMP cyclique peut être augmenté dans un compartiment encore indéterminé de la région axonale qui contient une phosphodiesterase active (14) (ROCH PH., GASSER D. et SALAMIN A., à publier).

R E F E R E N C E S

ABRAHAMSSON T. et NILSSON S. (1976).

Phenylethanolamine-N-methyl transferase (PNMT) activity and catecholamine content in chromaffin tissue and sympathetic neurons in the cod, *Gadus morhua*. *Acta Physiol.Scand.* 96, 94-99.

ANDEN N.E., BUTCHER S.G., CORRODI H., FUXE K. et UNGERSTEDT U.(1970).

Receptor activity and turnover of dopamine and noradrenaline after neuroleptics. *European J.Pharmacol.* 11, 303-314.

ANDEN N.E., GRABOWSKA M. et STROMBOM U. (1976).

Different alpha-adrenoceptors in the central nervous system mediating biochemical and functional effects of clonidine and receptor blocking agents. *Naunyn-Schmiedeberg Arch. Pharmacol.* 292, 43-52.

AXELROD J. et SAAVEDRA J.M. (1977).

Octopamine. *Nature* 265, 501-504.

BACQ Z.M. (1976).

Les contrôles de la libération des médiateurs aux terminaisons des nerfs adrénergiques. *J.Physiol.Paris* 72, 371-542.

BAKER P.F. (1965).

Phosphorus metabolism of intact crab nerve and its relation to the active transport of ions. *J.Physiol.Lond.* 180, 383-423.

BARKER K.A., HARPER B. et HUGUES I.E. (1977).

Possible subdivisions among α - adrenoceptors in various isolated tissues. *J.Pharm.Pharmac.* 29, 129-134.

BARRETT A.M. et CULLUM V.A. (1968).

The biological properties of the optical isomers of propranolol and their effects on cardiac arrhythmias. *Br.J.Pharmac.* 34, 43-55.

BJORKLUND A., CEGRELL L., FALCK B., RITZEN M. et ROSENGREN E. (1970). Dopamine containing cells in sympathetic ganglia. *Acta Physiol. Scand.* 78, 334-338.

BLOOM F.E. (1975).

The role of cyclic nucleotides in central synaptic function. *Rev. Physiol.Biochem.Pharmacol.* 74, 1-103.

BROWN Bl., ALBANO J.D.M., EKINS R.P., SGHERZI A.M. et TAMPION W. (1971).

A simple and sensitive saturation assay method for the measurement of adenosine 3', 5' -cyclic monophosphate. *Biochem.J.* 121, 561-562.

CARRIER O. (1972).

Pharmacology of the peripheral autonomic nervous system. Year Book Medical Publishers, Inc. Chicago.

CHATZEL S., ZIMMERMANN I. et BERG A. (1974).

Modulation of cyclic AMP synthesis in the cat superior cervical ganglion by short term presynaptic stimulation. *Brain Res.* 80, 523-526.

CHEUNG W.Y. et PATRICK S.M. (1974).

Properties and distribution of a cyclic AMP-binding protein. *Int. J.Biochem.* 5, 331-342.

CLARK R.B. et GROSS R. (1974).

Regulation of adenosine 3', 5'-monophosphate content in human astrocytoma cells by adenosine and the adenine nucleotides. J.Biol. Chem. 249, 5296-5303.

CRAMER H., JOHNSON D.G., HANBAUER I., SILBERSZEIN S.D. et KOPIN I.J. (1973).

Accumulation of adenosine 3', 5' -monophosphate induced by catecholamines in the superior cervical ganglion in vitro. Brain. Res. 53, 97-104.

DOLIVO M. (1974).

Metabolism of mammalian sympathetic ganglia. Federation Proc. 33, 1043-1048.

DOUGLAS W.W. (1968).

Stimulus-secretion coupling: the concept and clues from cromaffin and other cells. Brit.J.Pharmac. 34, 451-474.

DRUMMOND G.I. (1973).

Metabolism and functions of cyclic AMP in nerve. Prog.Neurobiol. 2, 121.176.

DRUMMOND G.I. et BELLWARD G. (1970).

Studies on phosphorylase b kinase from neural tissues. J.Neurochem. 17, 474-482.

DRUMMOND G.I. et LOVERNE D. (1970).

Adenyl cyclase in cardiac tissue. J.Biol.Chem. 245, 976-983.

EVANS D.H.L. et MURRAY J.G. (1954).

Histological and functional studies on the fibre composition of the vagus nerve of the rabbit. *J.Anat.* 88, 320-337.

FELTZ P. et DE CHAMPLAIN J. (1973).

A direct "postsynaptic" and "dopamine-like" effect of amphetamine on caudate neurones. *Life Sci.* 13 XXXV-XXXVI.

FINCH L., BUCKINGHAM R.E., MOORE R.A. et BUCHER T.J. (1975).

Evidence for a central α -sympathomimetic action of clonidine in the rat. *J.Pharm. Pharmac.* 27, 181-186.

FISKE C.H. et SUBBAROW Y. (1925).

The colorimetric determination of phosphorus. *J.Biol.Chem.* 66, 375-400.

FRIEDMAN D.L., JOHNSON R.A. et ZEILIG C.E. (1976).

The role of cyclic nucleotides in the cell cycle. *Adv.Cycl.Nucl. Res.* 7, 69-114.

GILL G.N. et GARREN L.D. (1969).

On the mechanism of action of adrenocorticotrophic hormone: the binding of cyclic 3', 5' -adenosine monophosphate to an adrenal cortical protein. *Proc.natn.Acad.Sci. U.S.A.* 63, 512-519.

GILMAN A.G. (1970).

A protein binding assay for adenosine 3', 5' -cyclic monophosphate *Proc.natn.Acad.Sci. U.S.A.* 67, 305-312.

GOLDSTEIN M., ANAGNOSTE B., LAUBER E. et McKEREGHAN M. (1964).

Inhibition of dopamine-beta-hydroxylase by disulfiram. *Life Sci.* 3, 763-767.

GREENGARD P. (1965).

Adenosine 5'-triphosphate: determination by fluorimetry. Methods of enzymatic analysis. Bergmeyer H.U., editor. pp. 551-558. Academic Press New-York.

GREENGARD P. (1976).

Possible role for cyclic nucleotides and phosphorylated membrane proteins in postsynaptic actions of neurotransmitters. Nature 260, 101-108.

GREENGARD P. et KEBABIAN J.W. (1974).

Role of cyclic AMP in synaptic transmission in the mammalian peripheral nervous system. Federation Proc. 33, 1059-1067.

GREENGARD P. et ROBISON G.A. (1973).

Advances in cyclic nucleotide research vol. 3. Raven Press Publ., New-York.

HANBAUER I., KOPIN I.J., GUIDOTTI A. et COSTA E. (1975).

Induction of tyrosine hydroxylase elicited by beta adrenergic receptor agonists in normal and decentralized sympathetic ganglia: role of cyclic 3', 5' -adenosine monophosphate. J.Pharmacol.Exp. Ther. 193, 95-104.

HARRIS J.E., BALDESSARINI R.J., MORGENROTH V.H. et ROTH R.H. (1975).

Activation by cyclic 3', 5' -adenosine monophosphate of tyrosine hydroxylase in the rat brain. Proc.Nat.Acad.Sci. 72, 789-793.

HEIKKILA R.E., ORLANSKY H. et COHEN G. (1975).

Studies on the distinction between uptake inhibition and release of ³H-dopamine in rat brain tissue slices. Biochem.Pharmacol. 24, 847-852.

HORN J.P. et McAFEE D.A. (1976).

Peripheral nerve: levels of cyclic nucleotides and their effect on excitability. *Federation Proc.* 35, 424.

HOWE R. et SHANKS R.C. (1966).

Optical isomers of propranolol. *Nature* 210, 1336-1338.

HUANG H. et DALY J.W. (1974).

Interrelationships among the levels of ATP, adenosine and cyclic AMP in incubated slices of guinea pig cerebral cortex: effect of depolarizing agents, psychotropic drugs and metabolic inhibitors. *J.Neurochem.* 23, 393-404.

HUANG M., SHIMIZU H. et DALY J.W. (1972).

Accumulation of cyclic adenosine monophosphate in incubated slices of brain tissue. 2. Effects of depolarizing agents, membrane stabilizers, phosphodiesterase inhibitors, and adenosine analogs. *J.Medic.Chemistry* 15, 462-466.

INGIGNOLI J.P. (1972).

Effets de l'aconitine et de la delphinine sur le potentiel de membrane et les perméabilités ioniques des fibres nerveuses myélinisées de la grenouille. Thèse No 3266 présentée à la faculté de médecine de l'Université de Genève.

ITO M., SLESS F. et PARROT D.M.V. (1977).

Evidence for control of complement receptor rosette-forming cells by α - and β -adrenergic agents. *Nature* 266, 633-635.

IVERSEN L.L. (1976)

Dopamine in the brain and its possible role in madness. *Trends Biochem.Sci.* 1, 121-123.

JACOBSON E.D. et THOMPSON W.J. (1976).

Cyclic AMP and gastric secretion: the illusive second messenger. *Adv.Cycl.Nucl.Res.* 7, 199-222.

JOHNSON R.A. et SUTHERLAND E.W. (1972).

Effects of fluoride and detergent on brain adenylyl cyclase. *Adv. Cycl.Nucl.Res.* 1, 576.

KALIX P., McAFEE D.A., SCHORDERET M. et GREENGARD P. (1974).

Pharmacological analysis of synaptically mediated increase in cyclic adenosine monophosphate in rabbit superior cervical ganglion. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 188, 676-687.

KEBABIAN J.W. et GREENGARD P. (1971).

Dopamine-sensitive adenylyl cyclase: possible role in synaptic transmission. *Science* 174, 1346-1349.

KEBABIAN J.W., STEINER A.L. et GREENGARD P. (1975).

Muscarinic cholinergic regulation of cyclic guanosine 3', 5' -monophosphate in autonomic ganglia: possible role in synaptic transmission. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 193, 474-488.

KINZIE J.L., GRIMME N.L. et ALPERS D.H. (1976).

Cyclic AMP - dependent amino acid uptake in intestine. The importance of β -adrenergic agonists. *Biochem.Pharmacol* 25, 2727-2731.

KORNEGAY D., PENNINGTON S. et GREENVILLE N.C. (1973).

A review of the effect of fluoride on adenylyl cyclase. *Fluoride* 6, 19-32.

KOSLOW S.H., BJEGOVIC M. et COSTA E. (1975).

Catecholamines in sympathetic ganglia of rat: effects of dexamethasone and reserpine. *J.Neurochem.* 24, 277-281.

KOSTERLITZ H.W., LEES G.M. et WALLIS D.I. (1968).

Resting and action potentials recorded by the sucrose-gap method in the superior cervical ganglion of the rabbit. *J.Physiol.Lond.* 195, 39-53.

KRISHNA G., WEISS B. et BRODIE B.B. (1968).

A simple, sensitive method for the assay of adenylyl cyclase. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 163, 379-385.

LANGER S.Z. (1974).

Presynaptic regulation of catecholamine release. *Biochem.Pharmacol.* 23, 1793-1800.

LAVERTY R. et SHARMAN D. (1965).

The estimation of small quantities of 3,4-dihydroxyphenylethylamine in tissues. *Br.J.Pharmac.* 24, 538-548.

LEVER J.D., PRESLEY R., SANTER R.M. et LU K.S. (1975).

Reserpine-induced catecholamine depletion from small cells in rat sympathetic ganglia. *Eur.J.Pharmacol.* 34, 321-327.

LIBET B. (1970).

Generation of slow inhibitory and excitatory postsynaptic potentials. *Federation Proc.* 29, 1945-1956.

LIBET B. et OWMAN C. (1974).

Concomitant changes in formaldehyde-induced fluorescence of dopamine interneurons and in slow inhibitory postsynaptic potentials of the rabbit superior cervical ganglion, induced by stimulation of the preganglion nerve or by a muscarinic agent. *J.Physiol. Lond.* 237, 635-662.

LISH P.M., WEIKEL J.H. et DUNGAN K.W. (1965).

Pharmacological and toxicological properties of two new α -adrenergic receptor agonists. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 149, 161-173.

McAFEE J.W., SCHORDERET M. et GREENGARD P. (1971).

Adenosine 3', 5' -monophosphate in nervous tissue: increase associated with synaptic transmission. *Sciences* 171, 1156-1158.

MANGANIELLO V.G. et VAUGHAN M. (1976).

Activation and inhibition of fat cell adenylate cyclase by fluoride. *J.Biol.Chem.* 251, 6205-6208.

MARCUS R. et AUBRACH G.D. (1971).

Adenyl cyclase from renal cortex. *Biochim.Bioph. Acta* 242, 410-421.

MARKS B.H. et SORGEN R.W. (1961).

Effects of reserpine and colchicine on enterochromaffin cells. *Biochem.Pharmacol.* 7, 96-99.

MODOLELL J.B. et MOORE R.O. (1967).

ATPase activities of rat epididymal adipose tissue. *Biochim.Biophys. Acta* 135, 319-332.

MORIWAKI K. et FOX P.P. (1969).

Inhibition of rat liver adenylyl cyclase by adenosine and adenine nucleotides. *Experientia* 26, 22.

MRSULJA B.B. (1972).

The influence of some biogenic amines and dibutyryl cyclic AMP on glycogen content in rat brain slices. *Experientia* 28, 1067.

NARAHASHI T. (1974).

Chemicals as tools in the study of excitable membranes. *Physiol. Rev.* 54, 813-889.

NATHANSON J.A. (1977).

Cyclic nucleotides and nervous system function. *Physiol. Rev.* 57, 157-256.

NOON J.P., McAFEE D.A. et ROTH R.H. (1975).

Norepinephrine release from nerve terminals within the rabbit superior cervical ganglion. *Naunyn-Schmiedeberg Arch. Pharmacol.* 291, 139-162.

NOON J.P. et ROTH R.H. (1975).

Some physiological and pharmacological characteristics of the stimulus induced release of norepinephrine from the rabbit superior cervical ganglion. *Naunyn-Schmiedeberg Arch. Pharmacol.* 291, 163-174.

ORENBERG E.K., RENSON J., ELLIOTT G.R., BARCHAS J.D. et KESSLER S. (1975).

Genetic determination of aggressive behavior and brain cyclic AMP. *Psychopharmacology Comm.* 1, 99-107.

ORLANS F.B.H., FINGER K.F. et BRODIE B.B. (1960).

Pharmacological consequences of the selective release of peripheral norepinephrine by syrosingopine (SU 3118). J.Pharmacol.Exp. Ther. 128, 131-139.

OTTEN U., MUELLER R.A., OESCH F. et THOENEN H. (1974).

Location of an isoproterenol-responsive cyclic AMP pool in adrenergic nerve cell bodies and its relationship to tyrosine 3-monooxygenase induction. Proc.Nat.Acad.Sci. 71, 2217-2221.

PATIL P.N., MILLER D.D. et TREDELENBURG U. (1975).

Molecular geometry and adrenergic drug activity. Pharmacol.Rev. 26, 323-392.

PHILLIPSON O.T. et MOORE K.E. (1975).

Effects of dexamethasone and nerve growth factor on phenylethanolamine N-methyltransferase and adrenaline in organ cultures of newborn rat superior cervical ganglion. J.Neurochem. 25, 295-298.

PHILLIS J.W. et KOSTOPOULOS G.K. (1975).

Adenosine as a putative transmitter in the cerebral cortex. Studies with potentiators and antagonists. Life Sci. 17, 1085-1094.

PORZIG H. (1973).

Effects of propranolol and tetracaine on the cation permeability of human erythrocyte ghosts. Naunyn-Schmiedeberg Arch. of Pharmacol. 277, suppl. R 56.

PRASAD K.N. (1974).

Abnormal regulation of cyclic AMP phosphodiesterase: a hypothesis for the development of cancer of nerve cells. Differentiation 2, 367-369.

QUASTEL D.M. (1974).

Excitation-secretion coupling at the mammalian neuromuscular junction. Synaptic transmission and neuronal interactions pp. 23-43. Raven Press New-York.

RALL T.W. et SUTHERLAND E.W. (1958).

Formation of a cyclic adenine ribonucleotide by tissue particles. J.Biol.Chem. 232, 1065-1076.

RANG H.R. et RITCHIE J.M. (1968).

On the electrogenic sodium pump in mammalian nonmyelinated fibres and its activation by various external cations. J.Physiol.Lond. 196, 183-221.

ROBISON G.A., BUTCHER R.W. et SUTHERLAND E.W. (1971).

Cyclic AMP. Academic Press, New-York.

ROCH PH. et KALIX P. (1975 a).

Effects of biogenic amines on the concentration of adenosine 3', 5' -monophosphate in bovine superior cervical ganglion. Neuropharmacol. 14, 21-29.

ROCH PH. et KALIX P. (1975 a).

Adenosine 3', 5' -monophosphate in bovine superior cervical ganglion: effect of high extracellular potassium. Biochem.Pharmacol. 24, 1293-1296.

ROCH PH. et SALAMIN A. (1976).

Adenosine promoted accumulation of adenosine 3', 5' -monophosphate in rabbit vagus nerve. Experientia 32, 1419-1421.

ROCH PH. et SALAMIN A. (1977).

Effect of β -adrenergic drugs on adenosine 3', 5' -monophosphate in rabbit vagus nerve. J.Neurochem. 28, 947-950.

RUBIN R.P. (1970).

The role of calcium in the release of neurotransmitter substances and hormones. Pharmacol. Rev. 22, 389-428.

RUBIN R.P., LAYCHOCK S.G. et END D.W. (1977).

On the role of cyclic AMP and cyclic GMP in steroid production by bovine cortical cells. Biochim.Biophys. Acta 496, 329-338.

SANTER R.M., LU K.S., LEVER J.D. et PRESLEY R. (1975).

A study of the distribution of chromaffin-positive (CH+) and small intensely fluorescent (SIF) cells in sympathetic ganglia of the rat at various ages.

SATTIN A. et RALL T.W. (1967).

The effect of brain extracts on the accumulation of cyclic 3', 5' -AMP in slices of guinea pig cerebral cortex. Federation Proc. 26, 707.

SATTIN A. et RALL T.W. (1970).

The effect of adenosine and adenosine nucleotides on the cyclic adenosine 3', 5' -phosphate content of guinea pig cerebral cortex slices. Molec.Pharmacol. 6, 13-23.

SCHLEGEL B. et OEY J. (1975).

Catecholamine induced cyclic AMP and morphologic alteration in glioma cells. Naturwissenschaften 62, 534-535.

SCHORDERET M. (1974 a).

Recherches fondamentales dans le domaine des nucléotides cycliques.
Med. et Hyg. 32, 649-655.

SCHORDERET M. (1974 b).

AMP cyclique et système nerveux. J.Physiol. Paris 68, 471-505.

SCHRAMM M. et NAIM E. (1970).

Adenyl cyclase of rat parotid gland, activation by fluoride and norepinephrine. J.Biol.Chem. 245, 3225-3231.

SEIDEN L.S., McPHAIL R.C. et OGLESBY M.W. (1975).

Catecholamines and drug behaviour interactions. Federation Proc. 34, 1823-1831.

SHIMIZU H., CREVELING C.R. et DALY J.W. (1970).

Stimulated formation of adenosine 3', 5' -cyclic phosphate in cerebral cortex: synergism between electrical activity and biogenic amines. Proc.Nat.Acad.Sci. USA 65, 1033-1040.

SHIMIZU H. et DALY J.W. (1972).

Effect of depolarizing agents on accumulation of cyclic adenosine 3', 5' -monophosphate in cerebral cortical slices. European J. Pharmacol. 17, 240-252.

SHIMIZU H., TAKENOSHITA M., HUANG M. et DALY J.W. (1973).

Accumulation of adenosine 3', 5' -monophosphate in brain slices: interaction of local anaesthetics and depolarizing agents. J.Neurochem. 20, 91-95.

SHIMIZU H. et YAMAMURA Y. (1977).

Effects of diaminopropionate, deoxyadenosine and theophylline on stimulated formation of cyclic AMP and GMP by depolarizing agents in slices of guinea pig cerebral cortex. *J.Neurochem.* 28, 383-388.

SHINEBOURNE E., WHITE R. et HAMER J. (1969).

A qualitative distinction between the beta-receptor blocking and local anesthetic actions of antiarrhythmic agents. *Circ. Res.* 24, 835-861.

SIGGINS G.R., HOFFER B.J. et BLOOM F.E. (1971).

Studies on norepinephrine-containing afferents to Purkinje cells of rat cerebellum. III. Evidence for mediation of norepinephrine effects by cyclic 3', 5' -adenosine monophosphate. *Brain Res.* 25, 535-553.

SKOLNICK PH. et DALY J.W. (1975).

Stimulation of adenosine 3', 5' -monophosphate formation by alpha and beta adrenergic agonists in rat cerebral cortical slices: effects of clonidine. *Mol.Pharmacol.* 11, 545-551.

SKOLNICK PH. et DALY J.W. (1976).

Interaction of clonidine with pre- and postsynaptic adrenergic receptors of rat brain: effects on cyclic AMP -generating systems. *Eur.J.Pharmacol.* 39, 11-21.

SPECTOR S. (1966).

Inhibitors of endogenous catecholamine biosynthesis. *Pharmacol. Rev.* 18, 599-609.

SPECTOR S., MATA R.O., SJOERDSMA A. et UNDEFRIEND S. (1965 a).
Biochemical and pharmacological effects of iodotyrosines; relation to tyrosine hydroxylase inhibition in vivo. *Life Sci.* 4, 1307-1311.

SPECTOR S., SJOERDSMA A. et UNDEFRIEND S. (1965 b).
Blocade of endogenous norepinephrine synthesis by α -methyl-tyrosine, an inhibitor of tyrosine hydroxylase. *J.Pharmacol.* 147, 86-95.

STAMPFLI R. (1954).
A new method for measuring membrane potentials with external electrodes. *Experientia* 10, 508-509.

STARKE K., MONTEL H., GAYK W. et MERKER R. (1974).
Comparison of the effects of clonidine on pre- and postsynaptic adrenoceptors in the rabbit pulmonary artery. *Naunyn-Schmiedeberg Arch. Pharmacol.* 285, 133-150.

STEINER A.L. (1973).
Radioimmunoassay for the cyclic nucleotides. *Pharmacol. Rev.* 25, 309-313.

STONE T.W. et TAYLOR D.A. (1977).
Microiontophoretic studies of the effects of cyclic nucleotides on excitability of neurones in the rat cerebral cortex. *J.Physiol.* 266, 523-543.

STRAUB R.W. (1956).
Die Wirkungen von Veratridin und Ionen auf das Ruhepotential markhaltiger Nervenfasern des Frosches. *Helv.Physiol. Acta.* 14, 1-28.

THOENEN H. (1974).

Trans - synaptic enzyme induction. *Life Sci.* 14, 223-235.

TRIA E., LULY P., TOMASI V., TREVISIANI A. et BARNABEI O. (1974).

Modulation by cyclic AMP in vitro of liver plasma membrane ($\text{Na}^+ - \text{K}^+$) -ATPase and protein kinases. *Biochim.Biophys. Acta* 343, 297-306.

VANDE BERG J.S. (1974).

Inhibitory effects of dibutyryl and cyclic AMP on the compound action potential in the frog (*Rana pipiens*) sciatic nerve.

Experientia 30, 1025-1027.

VAN ORDEN L.S., BURKE J.P., GEYER M. et LODOEN F.V. (1970).

Localization of depletion-sensitive and depletion resistant norepinephrine storage sites in autonomic ganglia. *J.Pharmacol.*

Exp.Ther. 174, 56-71.

VAN ORDEN L.S., SCHAEFER J.M., ANTONACCIO M.J. et SMITH C.B. (1974).

Fine structural identification of a reserpine-resistant norepinephrine store in adrenergic nerve terminals in guinea pig atria.

J.Pharmacol.Exp.Ther. 188, 668-675.

WEISS B. (1969).

Similarities and differences in the norepinephrine- and sodium fluoride-sensitive adenylyl cyclase system. *J.Pharmacol.Exp.Ther.*

166, 330-338.

WEISS B. et STILLER R.L. (1974).

D-butyryl cyclic adenosine monophosphate and brain lipid metabolism.

Lipids 9, 514-519.

WELLS T.A.G. (1968).

The rabbit. Dover Publications Inc. New-York.

WILKENING D. et MAKMAN M. (1976).

Stimulation of glycogenolysis in rat caudate nucleus slices by 1-isopropyl norepinephrine, dibutyryl cyclic AMP and 2-chloro-adenosine. J.Neurochem. 26, 923-928.

WILLIAMS T.H., BLACK A.C., CHIBA T. et BHALLA R.C. (1975).

Morphology and biochemistry of small intensely fluorescent cells of sympathetic ganglia. Nature 256, 315-317.

WISEMAN A. (1970).

Effect of inorganic fluoride on enzymes. Handbook of experimental Pharmacology vol. XX part. 2 pp. 48-97. Springer Verlag Berlin-Heidelberg.

WOLFF J. et COOK G.H. (1977).

Activation of steroidogenesis and adenylate cyclase by adenosine in adrenal and Leydig tumor cells. J.Biol.Chem. 252, 687-693.

WOODS W.F. et LIEBERMAN E.M. (1976).

The effect of papaverine on sodium-potassium adenosine triphosphatase and the ouabain sensitive electrical properties of crayfish nerve.

ZIANCE R.J., AZZURO A.J. et RUTLEDGE C.O. (1972).

Characteristics of amphetamine-induced release of norepinephrine from rat cerebral cortex in vitro. J.Pharmacol.Exp.Ther. 182, 284-294.

B I B L I O G R A P H I E D E L ' A U T E U R

ROCH PH. et KALIX P. (1974).

Effects of biogenic amines on the concentration of adenosine 3', 5' -monophosphate in bovine superior cervical ganglion.
Neuropharmacol. 14, 21-29.

ROCH PH. et KALIX P. (1975).

Adenosine 3', 5' -monophosphate in bovine superior cervical ganglion: effect of high extracellular potassium.
Biochem. Pharmacol. 24, 1293-1296.

KALIX P. et ROCH PH. (1975).

Effect of depolarizing agents on the adenosine 3' , 5' -monophosphate content of the bovine superior cervical ganglion.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 291, 131-137.

ROCH PH. et KALIX P. (1975).

Effect of potassium - and veratridine - depolarization on the synthesis of cyclic AMP in the superior cervical ganglion.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. Suppl. to vol. 287, R 51.

ROCH PH. et KALIX P. (1975).

Accumulation of cyclic AMP in bovine superior cervical ganglia induced by depolarizing media.
Experientia 31, 731-732.

KALIX P. et ROCH PH. (1975).

Depolarization-induced increase of cyclic AMP synthesis in bovine superior cervical ganglion.
Sixth International Congress of Pharmacology, Helsinki, Abstract No 517.

ROCH PH. et SALAMIN A. (1976).

Accumulation of cyclic AMP in rabbit vagus nerve by fluorine and adenosine.

Experientia 32, 782.

KALIX P. et ROCH PH. (1976).

Evidence of depolarization-induced cyclic AMP increase in the superior cervical ganglion of several mammalian species.

Gen. Pharmacol. 7, 267-270.

ROCH PH. et SALAMIN A. (1976).

Adenosine promoted accumulation of adenosine 3', 5' -monophosphate in rabbit vagus nerve.

Experientia 32, 1419-1421.

ROCH PH. et SALAMIN A. (1977).

Effect of β -adrenergic drugs on adenosine 3', 5' -monophosphate in rabbit vagus nerve. J.Neurochem. 28, 947-950.

ROCH PH. et SALAMIN A. (1977).

Cyclic AMP increase in vagus nerve by β -adrenergic drugs, adenosine, NaF and ATP.

Experientia 33, 799.

ROCH PH., GASSER D. et SALAMIN A.

The effects of fluoride on ATPase inhibition and cyclic AMP accumulation in rabbit vagus nerve and the possible relationship between the two phenomena.

A publier.

